



Esta obra está bajo una [Licencia
Creative Commons Atribución-
NoComercial-Compartirigual 2.5 Perú](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/).

Vea una copia de esta licencia en
<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE ECOLOGÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL



**“Biorremediación con *Penicillium spp*, *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp*
de suelos contaminados con DDT. Moyobamba – 2016”**

**Tesis para optar el título profesional de
INGENIERO AMBIENTAL**

AUTOR:

Bach. Tania Marilin Fernandez Brito

ASESOR:

Blgo M Sc. Luis Eduardo Rodríguez Pérez

Código N° 6053916

Moyobamba – Perú

2018

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

FACULTAD DE ECOLOGÍA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AMBIENTAL




**“Biorremediación con *Penicillium spp*, *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp*
de suelos contaminados con DDT. Moyobamba – 2016”**

**Tesis para optar el título profesional de
INGENIERO AMBIENTAL**


AUTOR:


Bach. Tania Marilin Fernandez Brito

Sustentado y aprobado ante el honorable jurado el día 17 de mayo del 2018.


.....
Ing. M.Sc. Santiago Alberto CASAS LUNA
Presidente


.....
Blgo. M. Sc. Alfredo Iban DÍAZ VISITACIÓN
Secretario


.....
Ing. Marcos Aquiles AYALA DIAZ
Miembro


.....
Blgo. M.Sc. Luis Eduardo RODRÍGUEZ PÉREZ
Asesor

Declaratoria de Autenticidad

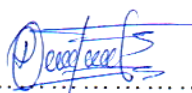
Yo, **Tania Marilin Fernandez Brito**, egresado de la Facultad de Ecología, de la Escuela Profesional de Ingeniería Ambiental, de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, identificado con DNI N° 74605866, con la tesis titulada “**Biorremediación con *Penicillium spp*, *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp* de suelos contaminados con DTT, Moyobamba - 2016**”.

Declaro bajo juramento que:

1. La tesis presentada es de mi autoría.
2. He respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas. Por tanto, la tesis no ha sido plagiada ni total ni parcialmente.
3. La tesis no ha sido auto plagiada; es decir, no ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional.
4. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falseados, ni duplicados, ni copiados y por tanto los resultados que se presenten en la tesis se constituirán en aportes a la realidad investigada.

De considerar que el trabajo cuenta con una falta grave, como el hecho de contar con datos fraudulentos, demostrar indicios y plagio (al no citar la información con sus autores), plagio (al presentar información de otros trabajos como propios), falsificación (al presentar la información e ideas de otras personas de forma falsa), entre otros, asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto.

Moyobamba, 17 de mayo del 2018.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Tania Marilin Fernandez Brito'.

.....
Tania Marilin Fernandez Brito
DNI N° 74605866

Formato de autorización NO EXCLUSIVA para la publicación de trabajos de investigación, conducentes a optar grados académicos y títulos profesionales en el Repositorio Digital de Tesis.

1. Datos del autor:

Apellidos y nombres:	Fernandez Brito Tania Marilín		
Código de alumno :	125104	Teléfono:	966247184
Correo electrónico :	ferbritomarin1995@gmail.com	DNI:	74605866

(En caso haya más autores, llenar un formulario por autor)

2. Datos Académicos

Facultad de:	Ecología
Escuela Profesional de:	Ingeniería Ambiental

3. Tipo de trabajo de investigación

Tesis	(x)	Trabajo de investigación	()
Trabajo de suficiencia profesional	()		

4. Datos del Trabajo de investigación

Título:	"Biorremediación con <i>Penicillium</i> spp, <i>Phanerochaete</i> spp y <i>Trychoderma</i> spp de suelos contaminados con DDT, Moyobamba - 2016."
Año de publicación:	2018

5. Tipo de Acceso al documento

Acceso público *	(x)	Embargo	()
Acceso restringido **	()		

Si el autor elige el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, una licencia **No Exclusiva**, para publicar, conservar y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en el Repositorio de Tesis Digital. Respetando siempre los Derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.

En caso que el autor elija la segunda opción, es necesario y obligatorio que indique el sustento correspondiente:

6. Originalidad del archivo digital.

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, como parte del proceso conducente a obtener el título profesional o grado académico, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado.

7. Otorgamiento de una licencia *CREATIVE COMMONS*

Para investigaciones que son de acceso abierto se les otorgó una licencia *Creative Commons*, con la finalidad de que cualquier usuario pueda acceder a la obra, bajo los términos que dicha licencia implica

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.5/pe/>

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad Nacional de San Martín - Tarapoto, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Digital de Tesis, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento.

Según el inciso 12.2, del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales - RENATI “**Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los metadatos en sus repositorios institucionales precisando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio ALICIA**”.



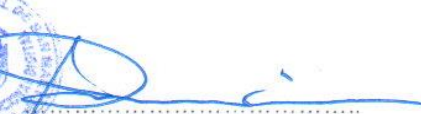
Firma del Autor

8. Para ser llenado en la Oficina de Repositorio Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso Abierto de la UNSM – T.

Fecha de recepción del documento:

02 / 07 / 2018




Firma del Responsable de Repositorio
Digital de Ciencia y Tecnología de Acceso
Abierto de la UNSM – T.

*** Acceso abierto:** uso lícito que confiere un titular de derechos de propiedad intelectual a cualquier persona, para que pueda acceder de manera inmediata y gratuita a una obra, datos procesados o estadísticas de monitoreo, sin necesidad de registro, suscripción, ni pago, estando autorizada a leerla, descargarla, reproducirla, distribuirla, imprimirla, buscarla y enlazar textos completos (Reglamento de la Ley No 30035).

**** Acceso restringido:** el documento no se visualizará en el Repositorio.

DEDICATORIA

A Dios:

Dedico este peldaño de mi vida a Dios por su infinito amor, por permitirme realizar mis sueños y por la sabiduría para enfrentar los retos de la vida.

A mis padres:

Sr. Jesús Fernandez Torres y Sra. Andrea Brito
Ocupa ejemplo de lucha y perseverancia quienes me dieron la fuerza constante para seguir adelante, para no desmayar en mi formación profesional, por brindarme sus sabios consejos para tomar decisiones firmes en todas las etapas de mi vida.

A mis hermanos y amigas:

Cristian y Gisela por brindarme su apoyo incondicional, y a mis amigas Kelith y Kelita por ser parte de mi formación profesional como compañeras

A mi novio:

Luis Minga Campos por ser partícipe de mi vida profesional y acompañarme en esta investigación.

Tania Marilin

AGRADECIMIENTO

A Dios, por guiarme y cuidarme en esta vida llena de obstáculos protegiéndome e impulsándome a seguir adelante, ya que paso a paso estoy logrando mis objetivos y metas con esmero y dedicación.

A mis padres y hermanos que siempre confiaron en mi persona y me apoyan en los momentos difíciles de manera incondicional.

A nuestra alma mater - Universidad Nacional de San Martín-T - Facultad de Ecología y docentes, por darme la oportunidad de formarme en sus aulas y así asimilar los conocimientos para mi formación académica y profesional que me servirá para poder desenvolverme plenamente en el campo de la carrera y en la sociedad que espera de mis conocimientos aprendidos.

A mi asesor de tesis Blgo. M.Sc. Luis Eduardo Rodríguez Pérez, por confiar, apoyarme y brindarme aportaciones constantemente en la realización de este proyecto.

Al Blgo. M.Sc. Alfredo Iban Díaz Visitación. Por la confianza incondicional, por sus sabias recomendaciones y consideraciones.

Al Ing. M.Sc. Santiago Alberto Casas Luna, por brindarme sugerencias durante la elaboración de esta investigación.

Al Ing. Marcos Aquiles Ayala Díaz, por brindarme sus importantes ideas para mejora de esta investigación.

A mis compañeros y amigas Kelith y Kelita, por el apoyo durante la ejecución del presente proyecto de investigación.

Tania Marilin

ÍNDICE

CARÁTULA	i
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE	viii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
 INTRODUCCION	 1
 CAPÍTULO I	
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1. Antecedentes de la investigación	3
1.1.1. Internacional	3
1.1.2. Nacional	5
1.2. Bases teóricas	5
1.2.1. Biorremediación	5
1.2.2. Definición del DDT	10
1.2.3. Género <i>Penicillium spp</i>	17
1.2.4. Género <i>Phanerochaete spp</i>	19
1.2.5. Género <i>Trichoderma spp</i>	20
1.3. Definición de términos básicos	22
 CAPÍTULO II	
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	23
2.1. Materiales	23
2.1.1. Materiales de laboratorio	23
2.1.2. Materiales de campo	23
2.1.3. Equipos	23
2.2. Métodos	23

2.3. Metodología.....	23
2.3.1. Ambientación del lugar donde se realizó la ejecución de este proyecto.....	23
2.3.2. Preparación de medio de cultivo.....	23
2.3.3. Recolección, de las cepas de hongos nativos.....	24
2.3.4. Aislamiento y sembrado de las cepas de hongos.....	24
2.3.5. Identificación de los 03 géneros de hongos biorremediadores	24
2.3.6. Preparación de los suelos.....	24
2.3.7. Contaminación de los suelos	25
2.3.8. Inoculación de las cepas de los 03 géneros de hongos biorremediadores en las parcelas de tratamiento	25
2.3.9. Evaluación de los suelos contaminados con DDT	25
2.4. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	25

CAPÍTULO III

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	30
3.1. Identificación de los tres géneros de hongos	30
3.1.1. Ubicación de hongos.....	30
3.1.2. Identificación de hongos	30
3.2. Determinación de dosis máxima y tratamiento optimo a 45 días de evaluación.....	31
3.2.1. Resultados de tratamientos en sus respectivos bloques	31
3.2.2. Cantidad de DDT Metabolizado en el primer muestreo	35
3.2.3. Porcentaje biorremediado por hongos	36
3.2.4. Concentraciones promedio de DDT en suelos contaminados según género y concentración de hongo aplicado.....	38
3.2.5. Diferencias significativas entre géneros de hongos y concentraciones de hongos	38
3.2.6. Determinación del tratamiento óptimo	39
3.3. Determinación de dosis máxima y tratamiento optimo a 90 días de evaluación.....	40
3.3.1. Resultados de tratamientos en sus respectivos bloques	39
3.3.2. Cantidad de DDT Metabolizado en el segundo muestreo	44
3.3.3. Porcentaje biorremediado por hongos	45
3.3.4. Concentraciones promedio de DDT en suelos contaminados.....	47
3.3.5. Diferencias significativas entre géneros de hongos y concentraciones de hongos	47

3.3.6. Determinación del tratamiento óptimo	48
3.4. Protocolo de descontaminación de DDT por los tres géneros de hongos.....	49
3.5. Discusiones	50
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	53
Conclusiones.....	53
Recomendaciones	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: <i>Datos obtenidos según muestras de suelos a 45 días</i>	31
Tabla 2: <i>Cantidad de DDT metabolizado</i>	35
Tabla 3: <i>Porcentaje de DDT metabolizado</i>	36
Tabla 4: <i>Kilogramos promedio de DDT presentes en el suelo (Primer muestreo)</i>	38
Tabla 5: <i>Diferencias significativas entre tratamientos y bloques (Primer muestreo)</i>	38
Tabla 6: <i>Tratamiento óptimo de biorremediación de suelos con DDT (Primer muestreo)</i> ..	39
Tabla 7: <i>Datos obtenidos según muestras de suelos a 90 días</i>	40
Tabla 8: <i>Cantidad de DDT metabolizado</i>	44
Tabla 9: <i>Porcentaje de DDT metabolizado</i>	45
Tabla 10: <i>Kilogramos promedio de DDT presentes en el suelo (segundo muestreo)</i>	47
Tabla 11: <i>Diferencias significativas entre tratamientos y bloques (segundo muestreo)</i>	47
Tabla 12: <i>Tratamiento óptimo de biorremediación de suelos con DDT (segundo muestreo)</i> ..	48

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1:</i> Kg encontrados de DDT Bloque I	32
<i>Figura 2:</i> Kg encontrados de DDT Bloque II	33
<i>Figura 3:</i> Kg encontrados de DDT Bloque III	34
<i>Figura 4:</i> Porcentajes de DDT metabolizado	37
<i>Figura 5:</i> Kg encontrados de DDT Bloque I	41
<i>Figura 6:</i> Kg encontrados de DDT Bloque II	42
<i>Figura 7:</i> Kg encontrados de DDT Bloque III	43
<i>Figura 8:</i> Porcentajes de DDT metabolizado	46

ANEXOS

Anexo A: Ubicación geográfica	59
Anexo B: Ubicación donde se llevó a cabo la investigación.....	62
Anexo C: Proceso de plaqueado y esterilización de las placas	63
Anexo D: Recolección de las cepas de hongos	64
Anexo E: Aislamiento de los hongos	65
Anexo F: Siembra de hongos en el laboratorio y crecimiento del mismo.....	66
Anexo G: Preparación de los suelos e inserción de los hongos respectivos.....	67
Anexo H: Muestreo para ser analizados en el laboratorio	69
Anexo I: Resultados de laboratorio “BALTIC CONTROL”	70

RESUMEN

La biorremediación involucra el uso de microorganismos para degradar contaminantes orgánicos presentes en el ambiente, transformándolos en compuestos más simples y de menor peligrosidad, inclusive inocuos. Esta investigación de descontaminación tiene una amplia aceptación pública y puede llevarse a cabo en el sitio. Comparado con otros métodos, la biorremediación es una forma más promisorio de eliminar los contaminantes presentes en suelos y agua por tal motivo se ejecutó este proyecto empleando mencionado método.

El objetivo general fue: Determinar en qué medida los géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp* pueden bioderremediar suelos contaminados con DDT en la ciudad de Moyobamba.

En esta investigación se evaluó tres géneros de hongos *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Trichoderma* el cual tuvieron el rol biorremediar o reducir diferentes cantidades del organoclorado DDT, siendo este pesticida muy persistente en el ambiente sobre todo en el suelo. Se utilizó el método de irrigación para darle la comodidad a cada género de hongo según su medio de vida adicionando el agua para mantener las condiciones de humedad adecuadas a la biorremediación en superficies terrestres ya que es muy común que pierdan la humedad es por ello que la aplicación fue cada dos días durante las 13 semanas de observación, con una reducción de 40 % a los 45 días y un 85 % a los 90 días según los géneros que más biorremediaron. Según los resultados obtenidos en el primer muestreo a 45 días de evaluación, el tratamiento óptimo fue el género *Phanerochaete* para la biorremediación de suelos contaminados siendo el que reduce significativamente el DDT, por otro lado en el segundo muestreo a 90 días de evaluación el tratamiento optimo fue el género *Phanerochaete*. En cuanto al aislamiento de bacterias se identificaron cepas de *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Trichoderma* estos géneros han sido identificados en previas investigaciones como degradadoras de pesticidas y compuestos organoclorados. Mediante la técnica de observación directa con la ayuda del microscopio se reconoció las características morfológicas de cada género.

Palabras claves: Hongos, organoclorado, contaminada, Dicloro Difenil Tricloroetano.

ABSTRACT

Bioremediation involves the use of microorganisms to degrade organic contaminants present in the environment, transforming them into simpler and less dangerous compounds, even innocuous ones. This decontamination investigation has a wide public acceptance and can be carried out on the site. Compared with other methods, bioremediation is a more promising way to eliminate contaminants present in soils and water, for this reason this project was implemented using this method.

The general objective was: To determine to what extent the genera *Penicillium* spp, *Phanerochaetes* spp and *Trichoderma* spp can bioremediate soils contaminated with DDT in the city of Moyobamba.

In this research three genera of fungi *Penicillium*, *Phanerochaete* and *Trichoderma* were evaluated, which had the role of bioremediating or reducing different amounts of organochlorine DDT, being this pesticide very persistent in the environment especially in the soil. The irrigation method was used to give comfort to each fungus genus according to their livelihood by adding water to maintain adequate moisture conditions for bioremediation on terrestrial surfaces as it is very common for them to lose moisture, which is why the application was every two days during the 13 weeks of observation, with a reduction of 40% at 45 days and 85% at 90 days according to the genera that most bioremediated. According to the results obtained in the first sampling at 45 days of evaluation, the optimal treatment was the *Phanerochaete* genus for the bioremediation of contaminated soils, which significantly reduces DDT, on the other hand in the second sampling at 90 days of evaluation the optimal treatment it was the genus *Phanerochaete*. Regarding the isolation of bacteria, strains of *Penicillium*, *Phanerochaete* and *Trichoderma* were identified. These genera have been identified in previous investigations as pesticide degraders and organochlorine compounds. Through the technique of direct observation with the help of the microscope, the morphological characteristics of each genus were recognized.

Keywords: Fungi, organochlorine, contaminated, Dichloro Diphenyl Trichloroethane.



INTRODUCCIÓN

La problemática en la región San Martín relacionada con los sitios contaminados con DDT y sus metabolitos está muy ligada al uso de plaguicidas en la agricultura, por ello se han abandonado y enterrado grandes cantidades de plaguicidas, debido a la prohibición del uso de algunos plaguicidas organoclorados que se utilizaron en grandes cantidades hasta llegar al punto de causar efectos adversos a la salud humana y al ecosistema.

En lugares como en esta región es especialmente importante que se realice investigación sobre biorremediación de contaminantes, ya que permite utilizar la gran biodiversidad microbiana de sus suelos como herramienta para mejorar ambientes dañados y preservar la salud de los ecosistemas.

El DDT en el ambiente presenta un largo período de vida medio, incluso una vez asimilado por los organismos el DDT y sus metabolitos permanecen en el cuerpo y son transferidos a sus predadores cuando se alimentan de él. La concentración de estos se incrementa a medida que se recorre la cadena alimenticia y se transportan por los vientos a través de la atmósfera, lo cual ha llevado a niveles de contaminación elevados de pesticidas persistentes en todas las regiones del país. Las exposiciones a pequeñas cantidades de DDT durante un tiempo prolongado dan lugar a acumulaciones mayores.

Antiguamente en la región San Martín los agricultores utilizaban productos químicos que contenían organoclorados que a medida que se fue utilizando los suelos se fueron degradando y hasta la actualidad esos suelos siguen degradados debido a que estos organoclorados son persistentes en el suelo, frente a esta problemática, este proyecto de investigación se planteó el siguiente problema: ¿En qué medida los géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp* pueden bioderremediar suelos contaminados con DDT Moyobamba 2016?

Frente a los resultados obtenidos en esta investigación la hipótesis es aceptable ya que los géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp* pueden bioderremediar suelos contaminados con DDT de manera significativa en Moyobamba.

Esta investigación es de mucha importancia especialmente en la contaminación del suelo por DDT, la cual este se ha visto afectado por el uso de insecticidas por parte de los agricultores que antiguamente usaban, puesto que con el pasar del tiempo siguen existiendo esto quiere decir que siguen persistentes en el suelo y mediante la biorremediación por los géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp* que son capaces de minimizar la contaminación es un logro para los diferentes ecosistemas afectados.

Se tuvo en cuenta las siguientes variables: Variable Independiente (x): Géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp*., Variable Dependiente (y): Biorremediación de suelo contaminado con DDT.

En este proyecto se tiene como objetivo general: Determinar en qué medida los géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp* pueden bioderremediar suelos contaminados con DDT. Así como también tenemos como los objetivos específicos que son los siguientes: Aislar los géneros *Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp* del ambiente, identificar las dosis máximas de descontaminación de DDT por cada género de hongo, determinación del tratamiento óptimo para descontaminar DDT y diseñar un protocolo de descontaminación de DDT por los tres géneros de hongos mencionados.

La estructura de este informe consta de tres capítulos: Capítulo I: trata sobre antecedentes de la investigación tanto internacional y nacional, bases teóricas como: biorremediación, definición del DDT, el género *Penicillium spp*, *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp*, se menciona también términos básicos de la investigación. Capítulo II: Tenemos los materiales utilizados en el laboratorio, campo y se menciona los equipos utilizados, método empleado en este caso es la biorremediación, la metodología empleada y las técnicas de procesamiento y análisis de datos siendo utilizado el DBCA, y en el Capítulo III: Tenemos los resultados como identificación de los tres géneros de hongos, determinación de la dosis máxima y tratamiento optimo y el protocolo de descontaminación por los tres géneros de hongos, se menciona también la discusión de resultados.

Finalmente se tiene como conclusiones que los tres géneros de hongos pueden descontaminar suelos con DDT en diferentes cantidades siendo en este caso el género *Phanerochaete spp* el más eficiente a una concentración de 30 g/L.

CAPÍTULO I

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1. Internacional

Betancur (2013), en su investigación: “*Biorremediación de suelo contaminado con el pesticida 1,1,1-tricloro-2,2’bis (p-clorofenil) etano (DDT) mediante protocolos de bioestimulación y adición de surfactante*”. Llega a las siguientes conclusiones: El tratamiento por bioestímulo permitió reducir la concentración de DDT en un 94.3% mientras que en el control por atenuación natural solo se obtuvo una remoción de 4,28 %. Esto permite concluir que el tratamiento por bioestímulo es efectivo para mejorar la remoción de DDT. Se determinó también que el efecto de la adición de surfactante fue inhibitorio, al comparar con la remoción obtenida el tratamiento por bioestímulo.

La identificación bioquímica y molecular de las bacterias que predominaron durante la biorremediación permitió determinar mediante análisis de la secuencia 16S ADN que en el tratamiento por bioestímulo predominaron las bacterias identificadas como *Bacillus thuringiensis*, *Flavobacterium* sp., *Phenylobacterium* sp. y *Bosea* sp. durante las ocho semanas de tratamiento aplicadas. Previamente se ha demostrado la habilidad de algunas de estas bacterias de degradar pesticidas, compuestos aromáticos, herbicidas y compuestos organoclorados. La identificación bacteriana basada en pruebas bioquímicas permitió hacer una visualización inicial de las bacterias presentes.

Stamatiu (2013), en su investigación: “*Tolerancia y biodegradación de plaguicidas con hongos filamentosos*” Llega a las siguientes conclusiones: Se obtuvieron 13 cepas de hongos filamentosos no ligninolíticos, de la paja de trigo molida se aislaron siete cepas, cuatro de suelo agrícola y dos trozos de paja de trigo. Las cepas K1P y K9P fueron afines a *Fusarium proliferatum* mientras que las cepas K2P y K13P se identificaron como *F. succisae*. Para las cepas K8P, K12P, K14P y K3TP las secuencias indicaron afinidad con *F. moniliforme* mientras que las cepas K1S y K11S se identificaron como *F. oxysporum* y *F. equiseti*, respectivamente. La cepa K8S se identificó como *Penicillium janthinellum*, K14S como *Mucor circinelloides*,

y la cepa K11TP correspondió a *Alternaria alternata*. Las cepas aisladas y las tres cepas de referencia (PC, TRI y TV) mostraron diferentes grados de tolerancia a endosulfan, clorpirifós y clorotalonil.

Cruz (2003), en su investigación: “*Biodegradación del DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(4-clorofenil)etano] en suelos agrícolas, por el hongo de pudrición blanca Phanerochaete chrysosporium*”, llega a las siguientes conclusiones:

Se comprobó la actividad degradativa que tiene el hongo de pudrición blanca *P. chrysosporium* sobre el plaguicida organoclorado DDT.

Se comprobó que el DDT es degradado en cometabolismo con la glucosa, sin embargo, sigue sin quedar claro cuál es la enzima que tiene acción directa en la etapa inicial de su degradación.

La actividad microbiana de degradación de DDT se comprobó con la aparición de un metabolito en los análisis cromatográficos de las muestras después del periodo de incubación que de acuerdo a la ruta de biodegradación propuesta puede ser el dicofol. A la temperatura de 39°C, se obtiene que el DDT en tres muestras de suelo presentaron porcentajes de volatilización mayores al 30%. Dichos valores se tomaron en cuenta para determinar el porcentaje total de biodegradación del DDT en el suelo a esa temperatura.

Escobar (2000), en su investigación: “*Caracterización de suelos contaminados con plaguicidas organoclorados, para su Biorremediación*”. Llega a las siguientes conclusiones:

Los análisis de cromatografía gaseosa realizados a los suelos que contienen diferentes tipos de cultivos se detectaron los plaguicidas siguientes: p,p'-DDT, p,p'-DDD, endosulfan I y II, alfa y beta hexaclorociclohexano. se observa que el cultivo de caña presenta la mayor concentración de p,p'-DDT tanto a los 20 cm como a los 40 cm (0.1022 mg/Kg y 0.0900 mg/Kg respectivamente). Su presencia en las tierras de cultivo se debe al uso actual de insecticidas en ese lugar.

Los suelos analizados presentan un buen nivel de micronutrientes y de otros indicadores analizados, la concentración de los metales pesados analizados, están por debajo del valor límite permisible, por lo que en estos suelos pueden llevarse a cabo un proceso de biorremediación.

1.1.2. Nacional

Buendía (2012), en su investigación: “Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol” llega a las siguientes conclusiones:

Los suelos contaminados con hidrocarburos, tratados con aserrín y estiércoles orgánicos en promedio disminuyó 22.5 % del contenido de hidrocarburos en el suelo. Empleando solo estiércol disminuyó solamente 16.5% y usando solamente aserrines disminuyó 9.6%.

Los suelos contaminados tratados con estiércol orgánico más aserrines, utilizados como sustratos para la planta del maíz, tuvieron en promedio 36.80 cm de altura de planta, en comparación a los tratamientos de suelos contaminados usando solamente estiércol un promedio de 24.48 cm y utilizando solamente aserrín un promedio de 22.14 cm.

1.2. Bases teóricas

1.2.1. Biorremediación

Es posible comprobar el papel microbiano en las transformaciones de contaminantes, ya que el compuesto es transformado en muestras no esterilizadas, pero no en muestras esterilizadas del ambiente natural, demostrando que los microorganismos son capaces de utilizar estos compuestos químicos como nutrientes y energía (Alexander, 1981).

Los suelos contienen hábitats ocupados por una diversidad de organismos, que interactúan unos con otros mediante relaciones directas, como las tróficas, mutualistas, parasíticas y predatorias, e indirectas, como la metabiosis, que es definida como una forma de dependencia ecológica, en la cual un organismo puede modificar el ambiente antes de que un segundo pueda vivir allí. También nuevos hábitats potenciales y nichos pueden crearse como resultado de la acción bacteriana, por cambios en el pH.

La detoxificación de los suelos por la eliminación de sustancias tóxicas por cepas pioneras de bacterias anaerobias, permitirán la evolución de las cepas, formando hábitats nuevos (Waid, 1999).

Como evidencia de estas relaciones, se ha observado en algunos estudios que los sistemas de microorganismos anaerobios son capaces de degradar contaminantes clorados como el DDT, por dechloración reductiva y que los productos resultantes pueden ser degradados más rápidamente por procesos aerobios (Corona, 1999).

Varias cepas de bacterias del suelo, están involucradas en la degradación de compuestos orgánicos tóxicos, y algunas de ellas pueden adaptarse a degradar xenobióticos recalcitrantes. La detoxificación del suelo también permite que las plantas susceptibles a toxinas sobrevivan o crezcan (Waid, 1999).

➤ Tipos de biorremediación

- Degradación enzimática

Este tipo de degradación consiste en el empleo de enzimas en el sitio contaminado con el fin de degradar las sustancias nocivas. Estas enzimas se obtienen en cantidades industriales a partir de bacterias que las producen naturalmente, o por bacterias modificadas genéticamente que son comercializadas por las empresas biotecnológicas.

La descontaminación se logra gracias a la capacidad natural de los organismos antes mencionados de transformar moléculas orgánicas en sustancias más pequeñas, que resultan menos tóxicas. (Sánchez, 2000).

- Remediación microbiana

Se refiere al uso de microorganismos directamente en el foco de la contaminación. Estos microorganismos pueden existir en ese sitio o provenir de otros ecosistemas, en cuyo caso deben ser inoculados en el sitio contaminado. Cuando no es necesaria la inoculación de microorganismos, suelen administrarse nutrientes, como nitrógeno, con el fin de acelerar el proceso de degradación.

Hay bacterias y hongos que pueden degradar con relativa facilidad petróleo y sus derivados, benceno, tolueno, acetona, pesticidas, herbicidas, éteres, alcoholes simples, entre otros. También pueden degradar, aunque parcialmente, otros compuestos químicos como el arsénico, el selenio, o el cromo. Los metales pesados como uranio, cadmio y mercurio no son biodegradables, pero las bacterias pueden concentrarlos de tal manera de

aislarlos para que sean eliminados más fácilmente. Estas características también pueden lograrse por ingeniería genética. (Martínez, 1998).

- **Fitorremediación**

La fitorremediación es el uso de plantas para limpiar ambientes contaminados y constituye una estrategia muy interesante, debido a la capacidad que tienen algunas especies vegetales de absorber, acumular y/o tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados, compuestos orgánicos y radioactivos, etc.

Las ventajas que ofrece la fitorremediación frente a los procesos descritos anteriormente son el bajo costo y la rapidez con que pueden llevarse a cabo ciertos procesos degradativos.

Según la planta y el agente contaminante, la fitorremediación puede producirse por acumulación del contaminante en las partes aéreas de la planta; absorción, precipitación y concentración del contaminante en raíces; reducción de la movilidad del contaminante para impedir la contaminación de aguas subterráneas o del aire; desarrollo de bacterias y hongos que crecen en las raíces y degradan contaminantes (este es el caso de mayor utilización para la limpieza de contaminación mediante hidrocarburos); captación y modificación del contaminante para luego liberarlo a la atmósfera con la transpiración y captación y degradación del contaminante para originar compuestos menos tóxicos. (Qlynn y Heinke, 1999).

➤ **Según la técnica utilizada**

- **Biodisponibilidad**

Es la facilidad de que los compuestos químicos presentes en el suelo, puedan ser absorbidos o metabolizados por receptores humanos o ecológicos o estar disponibles para la interacción con sistemas biológicos. Las características microbianas de mayor importancia en la biodisponibilidad de los contaminantes orgánicos presentes en el suelo, son las de tipo morfológico, fisiológico y adaptaciones de comportamiento de células sencillas y poblaciones, y fenómenos asociados con la dinámica y ecología de comunidades naturales. Las adaptaciones morfológicas comprenden el tamaño

y forma de las células, que les permiten desplazarse en la matriz del suelo y acceder a los microporos. Estos procesos de movilización para alcanzar un sustrato, se logran mediante el desarrollo de estructuras de elevadas dimensiones fractales, para un mejor aprovechamiento del espacio tridimensional que contiene el sustrato. Las adaptaciones fisiológicas incluyen la adquisición de sistemas de asimilación de alta afinidad para el contaminante, los cuales permiten al microorganismo llevar a cabo procesos de transferencia y desorción de un contaminante más rápido que otros. Otra característica importante es la capacidad de los microorganismos de co-utilizar los contaminantes con otros sustratos de carbón, debido a que los compuestos químicos que entran al ambiente a bajas concentraciones, no son lo suficientemente impactantes para causar la evolución de nuevas rutas catabólicas. Otra interacción de importancia es la síntesis y secreción de moléculas de superficie activas, la cual es una adaptación fisiológica a la baja bioaccesibilidad. La quimiotaxis es una adaptación del comportamiento que le permite a los microorganismos, localizar fuentes de contaminantes e incrementar su biodisponibilidad mediante el movimiento en dirección a un gradiente superior. (Semple, 2007).

➤ **Bioestimulación**

Los compuestos químicos sujetos a la acción microbiana no generan un crecimiento sustancial de las poblaciones responsables, lo cual ha llevado a considerar el fenómeno denominado cometabolismo o co-oxidación, por tanto, probablemente las poblaciones están creciendo en otro sustrato mientras se desarrolla este tipo de transformación.

Algunos estudios han demostrado que las fracciones degradables de pesticidas organoclorados como el DDT, están correlacionadas negativamente con el carbono orgánico del suelo, indicando que a mayor cantidad de carbono orgánico en el suelo, se da mayor persistencia del compuesto. (Alexander, 1981).

Esta técnica pretende modificar las condiciones del suelo (nutrientes, aireación, pH, humedad, entre otros) para que la actividad degradativa de interés pueda desarrollarse en condiciones óptimas. De tal forma puede lograrse, por ejemplo, que el crecimiento endógeno de los degradadores de petróleo sea

estimulado por la adición de nutrientes u otros sustratos. (Arango, 2007).

- **Bioaumentación**

La bioaumentación es la práctica de incrementar la población de bacterias nativas de un ecosistema con la adición de bacterias adaptadas selectivamente, las cuales han sido desarrolladas para aumentar los rangos de reducción orgánica o proporcionar la habilidad de degradar compuestos previamente considerados como difíciles o no biodegradables. Dicha técnica no sustituye la población de bacterias existentes, pero aumenta su habilidad de responder a ciertas situaciones o degradar compuestos de la corriente de desechos, dando como resultado una mejora del tratamiento.

La bioaumentación posibilita controlar la naturaleza de la biomasa, y garantiza que el tipo de microorganismos más idóneo esté presente en el suelo en cantidad suficiente para degradar en forma efectiva y eficiente los residuos contaminantes y reducirlos a sus componentes básicos (dióxido de carbono y agua). (Miller, 1996).

- **Inoculación**

Este método es una forma de tratamiento in situ (en el lugar) y se refiere a tratar el suelo contaminado sin removerlo (excavarlo). En este caso los minerales, nutrientes y a menudo los organismos son agregados dentro del piso a través de pozos, galerías de infiltración o otras formas, que facilitan que el proceso de degradación se realice en el sitio donde está la contaminación.

La mezcla periódica y la adición de más nutrientes (y/o organismos) permite asegurar homogeneidad mientras se airea la tierra. Esta práctica se conoce a menudo como cultivo de la tierra, pues los microorganismos son susceptibles de ser “cultivados”, para facilitar la degradación de material contaminado.

El tratamiento también se puede realizar ex situ (fuera del lugar) y se refiere a la excavación del lugar y el tratamiento de la tierra en un área apartada donde se agregan nutrientes minerales y microorganismos externos (si es el caso), seguido de una buena mezcla para asegurar la distribución a través de toda la tierra.

La biorremediación se puede realizar in situ o ex situ. En el tratamiento in situ (también conocido como biorremediación intrínseca) se puede estimular la actividad degradativa de los organismos que están presentes en el lugar contaminado a través del suministro de nutrientes (bioestimulación), o también es posible añadir organismos con propiedades específicas para degradar el contaminante (bioaumentación). (Di Paola, 2010).

1.2.2. Definición del DDT

El nombre propio, en forma de siglas, DDT, proviene de las iniciales de su nombre “Dicloro, Difenil, Tricloroetano”, derivado de su estructura química $(ClC_6H_4)_2CH(CCl_3)$. El DDT es el primer plaguicida más conocido y notorio, y quizás la molécula más distribuida a nivel universal. Es un sólido incoloro e inodoro, es casi insoluble en agua, pero tiene muy buena solubilidad en disolventes orgánicos, en grasas y en aceites; esta propiedad tiene gran transcendencia para su acumulación en los seres vivos. (Leary, 1995).

La molécula ya fue sintetizada en el 1873, pero no fue hasta 1940 que el químico suizo Paul Hermann Müller descubrió el efecto tóxico del DDT contra varios insectos, por ello recibió el premio Nobel en Fisiología o Medicina (1948). El DDT fue desarrollado como el primero de los insecticidas modernos y fue utilizado inicialmente en la Segunda Guerra Mundial entre los soldados como piojicida, donde produjo muchas intoxicaciones agudas e incluso suicidios entre la tropa. No obstante, el DDT mostró gran eficacia para combatir a los mosquitos que transmiten la malaria, el tifus y otras enfermedades humanas propagadas por insectos.

➤ Características del DDT

El DDT es un insecticida organoclorado cuyo principal uso actual es el control del paludismo a través del exterminio de los mosquitos vectores. En el pasado reciente también se empleaba en cultivos tan populares como el algodón; pero ahora, en este uso ha sido substituído por insecticidas menos persistentes. La síntesis química del DDT se logró a finales del siglo pasado; sin embargo, no fue sino hasta la segunda guerra mundial cuando se generalizó su uso como insecticida, en este caso, para el combate contra el tifo y el paludismo. Poco después, su aplicación se amplió al campo agrícola y ya para la década de los 60's, el 80 % de la producción de DDT era empleada en el cultivo del algodón.

El DDT fue prohibido en Suecia durante 1970 y en los Estados Unidos durante 1972. El grado técnico del DDT en realidad es una mezcla de tres isómeros de DDT, el principal es el p,p'-DDT (85%), y los isómeros o,p'-DDT y o, o'-DDT se presentan en cantidades mucho menores. En los sistemas animales el DDT y sus isómeros se transforman lentamente. Los primeros metabolitos en mamíferos son el 1,1-dicloro- 2,2-bis (p-diclorodifenil) etileno (DDE) y el 1,1-dicloro-2,2-bis (p-clorofenil) etano (DDD), ambos tienen la capacidad de almacenarse en el tejido adiposo. Estos compuestos pueden transformarse a su vez en el bis (diclorodifenil) ácido acético (DDA) y en el DDE metil sulfonato (DDE-ms). El DDA se excreta por orina y el DDE-ms se concentra en la glándula suprarrenal. Debido a sus características fisicoquímicas, el DDT puede transportarse por grandes distancias y ello ha originado su distribución global. Se ha encontrado DDT y sus metabolitos DDD y DDE aún en lugares donde el insecticida no ha sido aplicado, tal y como ocurre en el Ártico. (Deogracias, 2003).

➤ **Producción del DDT**

Entre 1950 y 1980, el DDT se utilizó ampliamente en la agricultura, más de 20.000 toneladas se utilizaban cada año en todo el mundo y se ha estimado que un total de 1,8 millones de toneladas se han producido a nivel mundial desde la década de 1940. Su uso alcanzó su punto máximo en 1959 a alrededor de 36.000 toneladas.

Desde su prohibición casi general, 3.314 toneladas fueron producidas para el control de la malaria y la leishmaniasis visceral. India sigue siendo el único país de fabricación, ya que en China la producción cesó en 2007.

El primer DDT que llegó a España fue de importación, pero bien pronto se empezó con la producción en España. Creo que hubo dos razones para esta pronta fabricación. Primero daba oportunidades de negocio a la empresa que lo fabricara. El nombre de DDT se convirtió en la mente de las personas de la época en sinónimo de milagroso. Segundo porque había una necesidad de tener este insecticida a bajo precio para poder hacer frente a campañas de control de enfermedades transmitidas por artrópodos: piojos, pulgas y mosquitos. Pero, ¿quiénes fueron estos pioneros en la fabricación de DDT en España. Una respuesta a esto la encuentro en un artículo del Dr. Gonzalo Piédrola Gil en el artículo de 1947 titulado ‘Valor profiláctico de los modernos desinfectantes’. “En

España preparan productos de la serie D.D.T. (Piérola, 2013).

➤ **Usos del DDT**

El DDT (diclorodifeniltricloroetano) es un plaguicida usado extensamente en el pasado para controlar insectos en cosechas agrícolas e insectos portadores de enfermedades tales como la malaria y el tifus. Actualmente se usa solamente en unos pocos países para controlar la malaria. El DDT de calidad técnica es un mezcla de tres formas de DDT: p,p=-DDT (85%), o,p=-DDT (15%) y de pequeñísimas cantidades de o,o=-DDT. Todas estas formas son sólidos blancos cristalinos, sin sabor y casi sin olor. El DDT de calidad técnica también puede contener DDE (diclorodifenildicloroetileno) y DDD (diclorodifenildicloroetano) como contaminantes. El DDD también se usó para matar plagas, pero su uso fue mucho menos extenso que el del DDT. Una forma de DDD ha sido usada en medicina para tratar el cáncer de la glándula adrenal. Tanto el DDE como el DDD son productos de degradación del DDT.

Antes del año 1973, cuando se prohibió su uso, el DDT entró al aire, al agua y al suelo durante su producción y uso como plaguicida. El DDT está presente en muchos sitios de desechos; las liberaciones desde estos sitios pueden continuar contaminando el ambiente. La mayor parte del DDT en el ambiente ocurre debido a su uso en el pasado. El DDD también se usó como plaguicida, pero su uso fue más limitado. El DDE se encuentra en el ambiente sólo como resultado de la contaminación o degradación del DDT. El DDD también entra al ambiente durante la degradación del DDT. (Departamento de salud y servicios humanos de los EE.UU, 2002).

➤ **Persistencia en el ambiente**

La persistencia de los hidrocarburos clorados en el ambiente depende principalmente de sus características físicas y químicas. Si la estructura es más compleja, halogenada e hidrofóbica, los hidrocarburos tienden a acumularse en el material particulado del suelo. Los hidrocarburos clorados son un grupo numeroso de compuestos, dentro de los cuales existen unos más persistentes que otros, por ejemplo, los altamente clorados puede ser degradados más fácilmente en condiciones anaerobias, mientras que aquellos menos clorados son

biodegradables en condiciones aerobias, de igual manera, la disposición de los átomos de cloro en la molécula también tiene influencia sobre la biodegradabilidad del compuesto. (Lundmark, 2002).

Existen un amplio rango de factores que reducen la habilidad de los microorganismos del suelo para degradar naturalmente los contaminantes, dentro de ellos se incluye la cantidad de nutrientes, pH, temperatura, humedad, oxígeno, características del suelo y la biodisponibilidad del contaminante, por tanto, la optimización de estas condiciones ambientales mejoran la biodegradación de los contaminantes en el suelo. La biodisponibilidad y el potencial tóxico de los contaminantes varían también en relación con la fuente y calidad de la materia orgánica. (Vigano, 2000).

➤ **Toxicidad del DDT y sus residuos en el ambiente**

El DDT es útil para el control de los insectos, actuando principalmente como neurotóxico con efectos directos en el canal de sodio activado por voltaje. Esta es una proteína transmembranal de la célula que permite el paso de iones de sodio a través de la misma. En las neuronas los canales de sodio son responsables de la fase ascendente del potencial de acción que es útil en los organismos para llevar información entre tejidos, lo que los convierte en una característica microscópica esencial para la vida. El DDT prolonga la corriente de inactivación de los canales de sodio, por tanto bloquea directamente los potenciales de acción mediante inhibición de los canales de sodio. Los pesticidas tienen también un modo de acción sistémico que interfiere con el metabolismo de los patógenos mediante la inhibición de la biosíntesis de esteroides. (Lubitz, 2004).

La exposición indirecta al DDT puede modificar la expresión de genes significativamente ante la presencia de compuestos orgánicos clorados, desencadenando alteraciones en el comportamiento celular relevantes para carcinogénesis y otros efectos adversos. Por ejemplo, estudios han demostrado que la proteína AP-1 que actúa como factor de transcripción regula la expresión de un gen que se ha asociado con el origen de tumores. Realizando ensayos con células epiteliales de ratas transfectadas con DNA de unión a AP-1 y un gen reportero de luciferasa, se encontró que los aromáticos clorados incrementaron la

inducción de la transcripción de AP-1 en dos y tres veces, mientras que los compuestos declorados equivalentes en concentración molar no tuvieron efecto en la transcripción mediada por AP1.

En bioensayos realizados por el Instituto Nacional de Cáncer estadounidense para evaluar la posible carcinogenicidad de DDT se encontraron asociaciones positivas entre el aumento de la concentración del químico y la mortalidad acelerada en hembras de ratón a las cuales se había dosificado DDT y en ambos sexos de ratones contaminados con DDE. Se presentó una asociación positiva entre la concentración de DDE suministrada a los ratones y la incidencia de carcinomas hepatocelulares. Se ha encontrado también asociaciones entre mayor incidencia de diabetes con compuestos organoclorados en suero sanguíneo, alteraciones en el sistema inmunológico en humanos y animales.

Como resultado de estas investigaciones, la Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades ha establecido un nivel mínimo de riesgo agudo de duración por vía oral para el DDT de 0.0005 mg/kg/día basado en efectos de desarrollo perinatal del sistema nervioso en ratones neonatos, con comportamiento neurotóxico manifestado en animales adultos. La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos estableció una dosis de referencia oral de 0.0005 mg/kg/día basado en lesiones en el hígado de ratas. La Organización Mundial de la Salud estableció un nivel máximo en agua potable de DDT y metabolitos de 2 µg/l. En Estados Unidos la Oficina de Seguridad y Salud Ocupacional estableció un límite máximo de DDT en aire de 1 mg/m³. (Boyd, 2004).

➤ **DDT en el suelo**

La contaminación a largo plazo por DDT ejerce una influencia negativa en las propiedades biológicas del suelo, por ejemplo, una disminución en las poblaciones de diferente microflora, su biomasa y actividad enzimática, lo cual puede desencadenar en pérdida de la fertilidad del suelo. (Kantachote, 2000).

Desde una perspectiva toxicológica, la unión entre xenobióticos y humus lleva a una disminución del material disponible para interactuar con la biota, reduce la toxicidad e inmoviliza el compuesto, reduciendo como consecuencia sus propiedades de transporte e incrementando la asimilación por las plantas. Pareek

y Gaur demostraron que incrementos en la concentración de DDT inhiben el proceso de nodulación en plantas de guisantes, frijol, zanahoria y tomate, con la consecuente disminución de su rendimiento de producción, de igual manera la asimilación de nitrógeno por estas plantas también disminuye. (Gaur, 1970).

Otros estudios realizados han demostrado la aplicación del principio de Hueppe's en lo referente a pesticidas en suelo: "Cada sustancia en una concentración que puede matar protoplasma, inhibirá el desarrollo en cantidades menores y en una dilución aun mayor podrá actuar como estimulante", por tanto esto y la producción de enzimas adaptativas debe ser tenido en cuenta para evaluar el potencial de degradación de pesticidas organoclorados por los microorganismos. (Smith, 1960).

Cuando el DDT es incorporado al suelo puede sufrir cualquiera de las siguientes reacciones: volatilización, degradación química, degradación fotoquímica, fitoextracción, adsorción en los componentes coloidales del suelo y lixiviación. (Schwedt, 2001).

A continuación se explica brevemente como ocurre cada una de ellas:

- **Volatilización:** El DDT puede evaporarse de la superficie del suelo en un tiempo estimado de alrededor de 100 días. La cantidad del DDT que se puede evaporar es de 50% aproximadamente, el resto permanece en la superficie y puede ser absorbido. (Brown, 1978).
- **Degradación química:** Que se realiza cuando el DDT pierde una molécula de ácido clorhídrico por reacción con un alcohol en medio alcalino, catalizada por sales de hierro o cromo, produciendo DDE [1,1-dicloro-2,2-bis(4-clorofenil)eteno]. En muchos suelos, esta reacción ocurre lentamente. (Brown, 1978).
- **Degradación fotoquímica:** Esta reacción ocurre en el aire por acción de la luz solar en un tiempo estimado de 3 días. (Brown, 1978).

El DDT reacciona con el radical hidroxilo producido fotoquímicamente, para producir DBP (4-4'-diclorobenzofenona) compuesto que puede dar lugar a bifenilos clorados. (Albert, 1990).

- **Fitoextracción:** La absorción y degradación de plaguicidas y otros

contaminantes por especies vegetales es considerada como una buena herramienta para eliminarlos del medio ambiente. La fitoextracción de DDT se reportó en la planta acuática *Elodea canadensis* y en la terrestre *Pueraria thunbergiana*. (Garrison, 2000).

- **Adsorción:** La materia orgánica del suelo tiene una alta afinidad por el DDT. El mecanismo por el cual el plaguicida es retenido en la matriz del suelo, no ha sido completamente aclarado, sin embargo, se cree que pueda ser fuertemente enlazado entre los intersticios de las moléculas de humus y quedar atrapado como en un tamiz, creándose interacciones moleculares del tipo fuerzas de van der Waals y puentes de hidrógeno. (Sparks, 1995).
- **Lixiviación:** el ácido fúlvico, una de las sustancias húmicas, al tener un bajo peso molecular, alta acidez y ser mas soluble que el ácido húmico, puede transportar al DDT hacia abajo en las capas orgánicas de algunos suelos forestales. (Sparks, 1995).

➤ **Comportamiento del DDT en el suelo**

De acuerdo al tiempo en que tardan en degradarse, los plaguicidas se dividen en grupos. Así, el DDT se identifica como un insecticida de alta persistencia (vida media mayor a 100 días); y por ejemplo, en algunos bosques su vida media llega a ser de 20 a 30 años. Afinidad por Suelos. La Agencia para las Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) califica la afinidad de las sustancias por el suelo de acuerdo al parámetro Koc (coeficiente de adsorción).

En esta calificación las sustancias con un Koc superior a 100 mil son las que se adsorben con mayor fuerza al suelo. El DDT tiene un Koc de 240 mil, el DDD lo tiene de 780 mil y el DDE supera a los tres con un Koc que es cinco veces superior al del DDD¹². Debido a su alta persistencia y en consecuencia directa de su biodegradación y afinidad por el suelo, es normal que en suelos tratados con el DDT, la concentración de éste vaya disminuyendo al tiempo de que la concentración de los metabolitos va incrementándose, sobre todo el DDE. Se han descrito algunos suelos que son particularmente resistentes a la degradación del DDT y en ellos, el cociente DDE/DDT es menor de lo normal. (Deogracias, 2003).

➤ Factores que afectan la degradación del DDT en el suelo

Son varios los obstáculos para llevar a cabo la eliminación de ciertos compuestos como los pesticidas, presentando un desafío para la biorremediación, ya que se deben identificar los factores que evitan que las bacterias degraden completamente los compuestos. Por ejemplo, uno de los principales inconvenientes de las rutas de degradación es que los metabolitos de compuestos orgánicos con átomos de cloro en una configuración particular (orto o meta) tienen tendencia a bloquear pasos críticos de degradación, inhibiendo enzimas oxigenadoras que catalizan el paso crítico de escisión del anillo. (Lundmark, 2002).

La biorremediación puede dirigirse a ambientes multifásicos y heterogéneos tales como suelos en los cuales el contaminante esté presente en asociación con las partículas de suelo, disuelto en los líquidos del suelo y en la atmósfera del suelo. (Boopathy, 2000).

Los parámetros más importantes para la biorremediación son la naturaleza de los contaminantes, la estructura del suelo, pH, contenido de humedad e hidrogeología, el estado nutricional y diversidad microbiana del sitio, temperatura y potencial redox. Las heterogeneidades físicas y químicas de la subsuperficie afectan la biorremediación in situ ya que controlan la disponibilidad de nutrientes y sustratos que regulan los procesos microbianos. Si la cinética de estos procesos fisicoquímicos de transferencia de masa es más lenta que la velocidad potencial de la biodegradación, se afectará la tasa global de biorremediación y el sistema estará limitado por la transferencia de masa. Por esta razón, la evaluación de la viabilidad de un proyecto de biorremediación in situ está dominada por la necesidad de identificar y estimar correctamente el fenómeno controlante de velocidad apropiado. (Seagren, 2008).

1.2.3. Género *Penicillium spp*

El género *Penicillium spp* fue descrito por primera vez por Link en 1809. Thom, en el año 1910, consideró a *P. expansum* como la especie tipo del género. Las especies que incluye en género *Penicillium spp* son ubicuas, de amplia distribución por todo el mundo y consideradas saprófitas. Muchas de ellas viven en el suelo o en materia orgánica en descomposición.

➤ **Morfología**

Este género se caracteriza por formar conidios en una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides. Se esquematizan los tipos de conidióforos del género *Penicillium spp*, cuyas ramificaciones se ubican formando verticilos. Si hay sólo un verticilo de fiálides el pincel es monoverticilado. Las ramificaciones de un pincel polivericilado son ramas, rámulas, métulas y fiálides. Los conidios generados en fiálides suelen llamarse fialoconidios para indicar su origen. En la fiálide, al dividirse el núcleo, se extiende simultáneamente el extremo apical que luego se estrangula separando a la espora recién formada. Se llama conectivo a la porción de pared que une entre sí a los conidios permitiendo la formación de cadenas, y en algunas especies se aprecia claramente con el microscopio óptico. (Carrillo, 2013).

➤ **Identificación**

Es importante poder diferenciar los *penicilios* de los otros hongos que forman esporas en conidióforos ramificados. El más parecido es el género *Paecilomyces* que tiene fiálides con el ápice muy alargado, conidios elípticos y colonias de tonos pardos pero nunca verdes. El género *Geosmithia* se originó al separar de *Penicillium spp* las especies que forman colonias blancas a beige, esporas casi cilíndricas y fiálides rugosas y cilindroides que se estrechan súbitamente en el ápice. Las especies de *Gliocladium* tiene fiálides con el extremo curvado y esporas mucosas que se aglomeran, mientras que los penicilios originan xerosporas en fiálides con un eje de simetría. También las especies de *Trichoderma* forman conidios mucosos que se reúnen en cabezuelas con tonos verdes. El género *Scopulariopsis* produce colonias pardas y esporas en anélides. (Carrillo, 2013).

➤ **Habitats naturales**

Con una sola excepción (*Penicillium spp*, hongo termodimórfico), los miembros del género *Penicillium* son hongos filamentosos. Las especies de *Penicillium spp* están ampliamente distribuidas en la naturaleza y se hallan en el suelo, la vegetación caída, el aire y el suelo. A diferencia de las otras especies del género, *Penicillium spp* es endémico del Sudeste de Asia, donde infecta ratas del bambú, las cuales sirven como marcadores epidemiológicos y reservorios para las

infecciones humanas. Es aislamiento de especies de *Penicillium* diferentes de *Penicillium spp* son considerados contaminantes habituales en el laboratorio, pero pueden causar infecciones, especialmente en huéspedes inmunocomprometidos. *Penicillium spp* es patógeno, particularmente en los pacientes HIV positivos, y su aislamiento de la sangre es considerado como un marcador de SIDA en las áreas endémicas. Además de su potencial patogenicidad, *Penicillium spp* produce micotoxinas. Algunas especies de *Penicillium spp* tienen fase teleomorfa, incluida en los géneros *Eupenicillium*, *Talaromyces*, *Hamigera* y *Trichocoma*. (Link, 1809).

➤ **Clasificación taxonómica**

Reino: Fungi
Phylum: Ascomycota
Clase: Euascomycetes
Orden: Eurotiales
Familia: Trichomaceae
Género: *Penicillium spp*.
 (Link, 1809).

1.2.4. Género *Phanerochaete spp*

Pertenecientes a los Basidiomicetes, y a la familia *Corticaceae*. De forma radial, con un cuerpo muy plano, que aparece normalmente como una simple costra en un tronco. En el caso de *Phanerochaete*, esta costra abarca colores desde el blanco hasta el color salmón. Se difunde casi siempre con una forma de telaraña, por lo que es difícil encontrarlo en su hábitat común. Este hongo es un descomponedor secundario de madera blanda y dura, y puede encontrarse en gran variedad de habitats a través del mundo. Esta es la especie más estudiada que causa la enfermedad de los árboles conocida como pudrición blanca, esto gracias a su habilidad para descomponer lignina que es un componente de la madera que le da la coloración oscura a la misma. (Boada, 1998).

Los basidiomicetos son los principales microorganismos degradadores de lignina, pero también incluyen muchos de los hongos presentes en las micorrizas y a varias especies patógenas de plantas superiores. (Thorn, 1997).

➤ **Descripción morfológica**

Las basidiosporas son estructuras haploides y unicelulares, con uno o dos núcleos. Pueden presentarse en forma de globo, ovales, alongadas, alargadas o angulares; pueden ser incoloras o pigmentadas, con colores tales como amarillo, anaranjado, verde, ocre, rosa, café, violeta, blanco o negro, y son estas características morfológicas, las que ayudan a clasificar a los diversos grupos de estos organismos. Los pigmentos oscuros pueden ser detectados tanto en las esporas individuales como en los micelios, pero, como ocurre con frecuencia, algunos pigmentos son imperceptibles en una sola espora, por lo que para los fines de clasificación taxonómica, antes mencionados, se hace necesario observar bajo el microorganismo la superficie del micelo completo. (Alexopoulos, 1996).

➤ **Clasificación taxonómica**

Reino: Fungi

División: Basidiomycota

Orden: Polyporales

Familia: Phanerochaetaceae

Género: Phanerochaete

(Bourdot, 1978).

1.2.5. Género *Trichoderma spp*

Las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma spp* han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito agrícola, principalmente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos. Sin embargo, los estudios sobre su comportamiento y su efecto en ambientes terrestres y acuáticos contaminados han sido escasamente estudiados.

El género *Trichoderma spp* fue identificado en 1871 y ha sido ampliamente estudiado, se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas. Lo podemos encontrar en diferentes zonas y hábitats, especialmente donde existe materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así como en residuos de cultivos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales coloniza rápidamente. Esta capacidad de adaptación a diversas condiciones ambientales y sustratos confiere a *Trichoderma spp* la posibilidad de ser utilizado en diferentes suelos, cultivos, climas y procesos

tecnológicos para su multiplicación. (Alvares, 2013).

➤ **Hábitats naturales**

Estos hongos se caracterizan por predominar en los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos) y acuáticos. Algunas especies son de vida libre en el suelo, oportunistas, simbiontes de plantas, y otras son micoparásitas. Además, pueden colonizar distintos ambientes, debido a su alta capacidad reproductiva (Bissett, 1991).

Los requerimientos nutrimentales de estos hongos filamentosos son pocos, aunque su crecimiento es favorecido por la materia orgánica, y su humedad y temperatura óptimas de crecimiento se encuentran en un rango de 25 a 30 °C. Sin embargo, se pueden adaptar y sobrevivir en condiciones extremas de temperatura, pH y salinidad. (Widden y Scattolin, 1988).

De manera particular, los hongos del género *Trichoderma* se pueden encontrar en la rizosfera, donde son capaces de competir por nutrientes y espacio con otros microorganismos. Además, este grupo fúngico es importante para las plantas, al contribuir en el control de hongos fitopatógenos ya que poseen propiedades micoparasíticas y antibióticas, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades para diferentes plantas hortícolas. (Score y Palfreyman, 1994).

➤ ***Trichoderma spp* y su relación con contaminantes orgánicos**

Las especies de *Trichoderma spp* pueden potencialmente contribuir en la degradación de compuestos orgánicos contaminantes depositados en el suelo. De manera específica, la forma en que un microorganismo interactúa con un contaminante de naturaleza orgánica, es diferente a la de un contaminante de origen inorgánico. Los microorganismos pueden transformar los contaminantes orgánicos en compuestos que presenten menor o mayor toxicidad, con respecto al compuesto original. Algunos microorganismos pueden degradar completamente los contaminantes orgánicos, lo que implica su completa mineralización hasta compuestos inocuos como agua y dióxido de carbono. (Shannon y Unterman, 1993).

➤ **Clasificación taxonómica**

Reino: Fungi

División: Eumycota
Clase: Euascomycetes
Orden: Hyphales
Familia: Hypocraceae
Género: Trichoderma
 (Jaklitsch, 2006).

1.3. Definición de términos básicos

Biorremediación: La biorremediación es una tecnología que utiliza el potencial metabólico de los microorganismos (fundamentalmente bacterias, pero también hongos y levaduras) para transformar contaminantes orgánicos en compuestos más simples poco o nada contaminantes, y, por tanto, se puede utilizar para limpiar terrenos o aguas contaminadas. (Glazer y Nikaido, 1995).

Hongos: Son organismos heterotróficos y osmotróficos, con quitina o quitosano en la pared celular, y esta contiene celulosa. . (Mueller, 2004).

Suelo: Es un recurso vivo, dinámico, compuesto de partículas de minerales de diferentes tamaños, materia orgánica y numerosas especies de microorganismos morfológica y fisiológicamente distintos. (Paul y Clark, 1996).

Contaminación de suelos: Es aquel cuyas características físicas, químicas o biológicas han sido alteradas negativamente por la presencia de componentes peligrosos de origen humano, en concentración tal que comparten un riesgo para la salud humana o el medio ambiente. (Martínez, 2005).

Los plaguicidas: Es una sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo vectores de enfermedades humanas o animales, especies indeseables de plantas o animales capaces de causar daños o interferir de cualquier otra forma con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o mercado de los alimentos. (Wilkinson, 1976).

Plaguicidas organoclorados: Son aquellos que poseen átomos de carbono, hidrogeno y cloro en su estructura química, entre los plaguicidas organoclorados se destacan: DDT, Aldrin, Endrin, BHC, Lindano, endosulfan y Metoxicloro. (Hayes, 1982).

CAPÍTULO II

MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Materiales

2.1.1. Materiales de laboratorio

Para hacer posible esta tesis se utilizó en el laboratorio de la Facultad de Ecología, medios de cultivo que permitió crecer las cepas de los hongos en placas Petri, posteriormente se usó azul de metileno, solución salina, agua estéril para obtener el inocuo.

2.1.2. Materiales de campo

Se utilizó calaminas que permitió la sombra a los tratamientos, se circuló con malla todo el alrededor para asegurarnos que nadie ingrese.

2.1.3. Equipos

El microscopio nos ayudó a identificar los hongos, la balanza analítica la utilizamos para el peso exacto, mientras que la cámara la usamos para capturar cada momento y la laptop se usó para hacer todo el gabinete del proyecto de investigación.

2.2. Métodos

La biorremediación es el método que se utilizó para limpiar suelos contaminados de una forma muy práctica ya que se usan a los mismos microorganismos que viven en el suelo y el subsuelo.

2.3. Metodología

2.3.1. Ambientación del lugar donde se realizó la ejecución de este proyecto.

Se construyó una pequeña casa utilizando materiales de la zona en un espacio de la Facultad de Ecología de la Universidad Nacional de San Martín ya que el proyecto tenía tratamientos que se llevaron bajo sombra para evitar el sol y la lluvia en forma directa.

2.3.2. Preparación de medio de cultivo.

Se preparó 200 mL de medio de cultivo para hongos agar Sabouraud comercial,

calentando en la cocina agitador, hasta la ebullición y cambio del estado sólido a líquido. Posteriormente se realizó el proceso de plaqueado en placas Petri esterilizadas previamente a 150 °C en una autoclave durante 20 minutos, para así evitar la contaminación de agentes patógenos que podrían alterar datos de la investigación.

2.3.3. Recolección, de las cepas de hongos nativos.

La recolección de los hongos de *Penicillium* spp se hizo de naranjas en estado de pudrición del mercado zonal Ayaymama, los *Phanerochaetes* spp se hizo de madera en descomposición encontrados en una chacra ubicado en el Caserío Alto Carrizal del Distrito de Jepelacio Provincia de Moyobamba, así como también los *Trychoderma* spp se extrajo de las raíces de árboles en descomposición del mencionado lugar.

Estos hongos también pueden ser encontrados en el Centro de Investigación Pabloyacu de la Universidad de San Martín y en otros lugares húmedos en el cual debe haber madera y raíces en descomposición.

2.3.4. Aislamiento y sembrado de las cepas de hongos.

Se utilizó 10 mL de agua destilada para homogenizar las muestras y poder repicar en el agar Sabouraud. Para el sembrado y aislamiento de los 03 géneros de hongos se utilizó la técnica de placa invertida en el medio de cultivo en el laboratorio, luego fueron incubadas a 37 °C durante 05 días, esto permitió a dichos organismos crecer en placas separadas, obteniendo así cepas purificadas.

2.3.5. Identificación de los 03 géneros de hongos biorremediadores.

Una vez que crecieron las cepas, la identificación se hizo mediante la técnica de observación directa con la ayuda del microscopio reconociendo características morfológicas de cada género.

2.3.6. Preparación de los suelos.

Se obtuvo una cantidad de 42 kilos de tierra, en la cual fue recolectado del Sector Punta de Doña de la ciudad de Moyobamba, siendo 3.50 kg de suelo para cada tratamiento, para esto se utilizó una técnica del cuarteo en los determinados puntos de recolección para determinar la muestra laboreada hasta llegar al número de kilos determinado. (Ver anexo 3A)

2.3.7. Contaminación de los suelos.

Para poder contaminar el suelo se compró el contaminante de nombre comercial ANOFEX que contiene la misma composición química que el DDT, algunas personas lo siguen vendiendo en agro veterinarias para combatir roedores.

Se realizó por espolvoreo, en el cual consistió en la distribución del producto DDT en forma de polvo, mediante la aplicación de una corriente de aire, que a su paso por el depósito de tratamiento arrastra parte del producto hacia el suelo en el cual se logró la mayor penetración en la muestra, se ubicó solo 20 g. de DDT en cada tratamiento.

2.3.8. Inoculación de las cepas de los 03 géneros de hongos biorremediadores en las parcelas de tratamiento.

Se preparó 03 L de inóculo de cada género a diferentes concentraciones (09 L por los tres géneros), utilizando Solución Salina al 0,9 %. La inoculación fue de manera directa y vertido directo, se colocó un litro de inocuo de cada género utilizando solución salina para evitar confundirse y permitir contener condición isotónica a la célula, la concentración fue de 10 g para cada género de hongo en el bloque I, 20 g para el bloque II y 30 g para el bloque III.

2.3.9. Evaluación de los suelos contaminados con DDT.

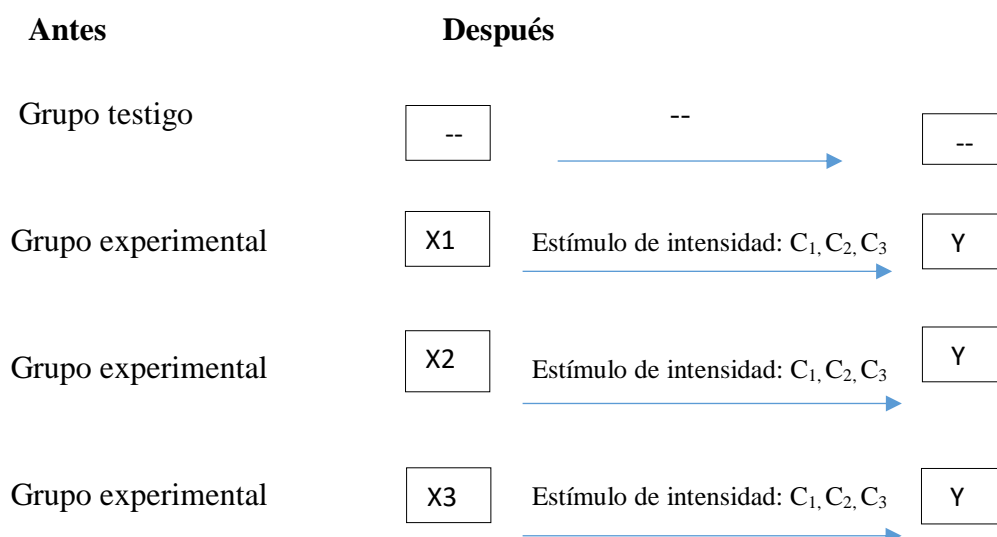
Se evaluó por tres meses utilizando el método de irrigación adicionando el agua para mantener las condiciones de humedad adecuadas para la biorremediación esto se aplicó cada dos días a los tratamientos ya que los hongos viven en zonas húmedas, también se realizó la aireación del suelo mediante el laboreo. La toma de muestras se hizo cada 45 días para ser analizadas en el laboratorio ya que en total se hicieron dos análisis (el primero fue a 45 días, y el último fue a 90 días).

Las muestras fueron de 350 g de suelo para cada tratamiento, para ello se utilizó envases con tapa seguros con la finalidad de evitar mezclarse unas con otras, también se usó un tecnopor en el cual se ubicó todas las muestras para luego ser enviadas y analizadas en un laboratorio de la ciudad de Lima.

2.4. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

- a. Se utilizó el diseño con estímulo creciente o con preprueba-postprueba y varios grupos, para poder definir nuestro análisis de datos.

Es otra variación del diseño clásico, en la que se usan varios grupos idénticos que servirán de grupos experimentales y testigos, recíprocamente. La variable “estímulo” es aplicada en magnitudes diferentes para cada grupo, uno de los cuales, el testigo por antonomasia, no recibe estímulo alguno. Este diseño confiere mayor validez y confiabilidad al estudio, porque permite establecer las variaciones concomitantes expresables, la mayor parte de veces, en fórmulas matemáticas.



(Bocanegra, 1999)

Se utilizó el diseño en bloques completos al azar (DBCA), donde los tratamientos fueron los géneros de hongos y los bloques la concentración de hongos:

Tratamientos:

T₀: Testigo

T₁: Hongos del genero *Penicillium spp*

T₂: Hongos del genero *Phanerochaetes spp*

T₃: Hongos del genero *Trichoderma spp*

Bloques:

I: 10 g/L

II: 20 g/L

III: 30 g/L

Cuya ecuación es la siguiente: $Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ij}$

(De Mendiburu, 2005)

Donde:

μ : es el efecto medio que producen los hongos en la biorremediación de los suelos contaminados.

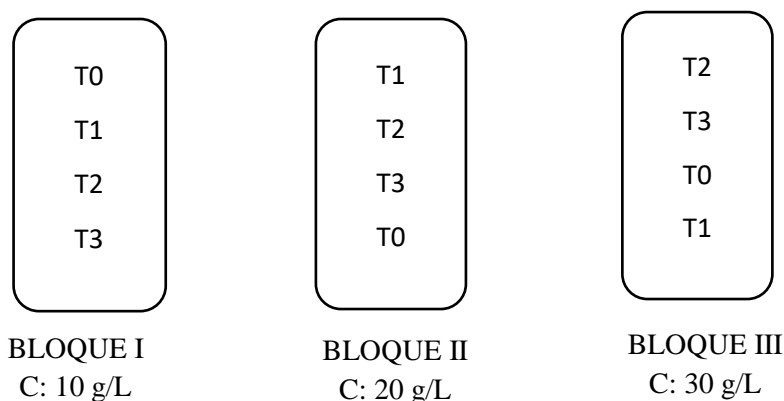
τ_i : es el efecto del género del hongo i

β_j : es el efecto de la concentración del hongo j

ε_{ij} : es el error experimental de la unidad experimental ij

Y_{ij} : son las observaciones en las unidades experimentales

Se utilizó el diseño con estímulo creciente o con preprueba - postprueba y varios grupos, completamente al azar por bloques, todos los tratamientos fueron asignados al azar a los bloques con cuatro tratamientos T0; T1; T2; T3, asignados al azar a tres bloques, es como sigue:



- b. Para saber la cantidad en kg de DDT metabolizado por los hongos evaluados, se utilizó una sustracción.

$$DI - DF = CDM$$

Descripción:

- DI: DDT inicial
- DF: DDT final
- CDM: Cantidad de DDT metabolizado. (Maza, 1991).

El DDT inicial es de 0,020 kg

- c. Para tener la cantidad de DDT metabolizado en porcentajes, se utilizó la ecuación de tres simple:

$$(CDM \times 100) / DI = PDM$$

Donde:

- DI: DDT inicial
- CDM: Cantidad de DDT metabolizado
- PDM: Porcentaje de DDT metabolizado. (Vergnaud, 1983).

El DDT inicial es de 0,020 kg

- d. Se utilizaron las medidas de tendencia central y de dispersión

Media aritmética
$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

Desviación estándar
$$S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Coefficiente de variación
$$CV = \frac{\sqrt{CME}}{\bar{x}} \cdot 100$$

- e. Bajo el DBCA se determinó el tratamiento óptimo para identificar el género de hongo que con mayor contribución en la biorremediación de suelos contaminados con DDT, para lo cual previamente se realizó en análisis de varianza cuyo esquema es el siguiente:

Fuentes de variación	Grados de libertad.	Suma de cuadrados	cuadrados medios	valor F calculado	valor crítico
Género de hongos (tratamientos)	GLT	SCT	CMT	FT	FCT
Concentraciones de hongos (bloques)	GLB	SCB	CMB	FB	FCT
Error	GLE	SCE	CME		
Total	GL Total				

- f. La decisión respecto a las diferencias significativas se tomó de acuerdo a los siguientes criterios:

Si $F_c > F_t$, entonces existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Si $F_c < F_t$, entonces no existen diferencias significativas entre los tratamientos.

- g. Mediante la prueba de Duncan, con un nivel de confianza del 95% se determinó el tratamiento óptimo. Previamente se determinó la desviación estándar de los promedios y las amplitudes estudiantizadas significativas (AES), mediante la siguiente ecuación:

$$S_x = \sqrt{\frac{CME}{r}}$$

Luego se determinaron las Amplitudes del Límite de Significación se Duncan (ALS):

Pr	2	3	4
AES			
$S_x =$			
ALS			

- h. El procesamiento de los datos se realizó en forma electrónica, haciendo uso del Ms. Excel.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Identificación de los tres géneros de hongos

3.1.1. Ubicación de hongos

El lugar en donde se muestreó los hongos *Phanerochaete spp* y *Trychoderma spp* fue una chacra de café en una parte húmeda, que tiene 7 años, ubicada en el caserío Nuevos Aires de la provincia de Moyobamba. (Ver anexo 1A)

Se ubicaron estos hongos teniendo en cuenta los siguientes criterios: su habitat del género *Phanerochaete spp* es en troncos en descomposición por muchos años después de haber sido talado y que este mantenga siempre una humedad, mientras que el género *Trychoderma spp* es en raíces en descomposición que se encuentren en el subsuelo manteniendo también una humedad.

El género *Penicillium spp* se encontró en naranjas con estado de pudrición, este género se obtuvo del mercado zonal Ayaymama de la Provincia de Moyobamba.

3.1.2. Identificación de hongos

La identificación de los tres géneros de hongos se hizo mediante la utilización del microscopio porque los hongos utilizados son de un tamaño reducido y sus características se observa a nivel celular, el proceso de identificación estuvo a cargo del Blgo. M. Sc. Luis Eduardo Rodríguez Pérez, utilizando el método de la observación directa al microscopio, las características morfológicas que se observaron en cada género de hongo se describen a continuación:

- **Género *Penicillium spp*.**

Tiene una estructura ramificada semejante a un pincel que termina en células conidiógenas llamadas fiálides.

- **Género *Phanerochaete spp*.**

Tienen estructuras haploides y unicelulares, con uno o dos núcleos. Pueden presentarse en forma de globo, ovales, elongadas, alargadas o angulares; pueden ser incoloras o pigmentadas, con colores tales como amarillo, anaranjado, verde, ocre, rosa, café, violeta, blanco o negro.

- **Género *Trychoderma spp.***

Se caracterizan por poseer una gruesa pared exterior, constituida por tres capas (endospora, epispora y perispora).

3.2. Determinación de dosis máxima y tratamiento optimo a 45 días de evaluación

3.2.1. Resultados de tratamientos en sus respectivos bloques

Tabla 1

Datos obtenidos según muestras de suelo a 45 días.

Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0.020 kg	0.018 kg	0.016 kg	0.017 kg
II	0.020 kg	0.016 kg	0.013 kg	0.015 kg
III	0.020 kg	0.013 kg	0.012 kg	0.012 kg

Fuente: Elaborado por el autor

Interpretación:

La tabla 1 contiene resultados obtenidos de análisis en el laboratorio, donde se aprecia que en el bloque I con concentración de 10 g/L de inóculo de cada género de hongo, en el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) se ha obtenido el mayor valor (0.018 kg de DDT) siendo el que menor eficiencia ha logrado en un tiempo de 45 días. Los que mayor eficiencia han logrado están en el bloque III con concentración de 30 g/L de inóculo, son el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) con un valor de 0.012 kg de DDT siendo el valor inicial 0.020 kg DDT. En el bloque II los valores también disminuyeron como es el caso del tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) que disminuyo 0.002 kg de DDT más que en el bloque I, así como también el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) disminuyó 0.003 kg de DDT y el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) disminuyó 0.002 kg de DDT, esta disminución del organoclorado se debe a que su concentración fue de 20 g/L de inóculo de cada género en el bloque II. Por otra parte obtuvimos un valor de 0.016 kg de DDT en el bloque I con el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y en el bloque II con el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*). Las diferencia que existe en

el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) entre el bloque I con el bloque III es de 0.005 kg de DDT, en el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es de 0.004 kg de DDT y en el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) es de 0.005 kg de DDT. También podemos decir que el tratamiento testigo se mantiene intacto con el valor inicial que es de 0.020 kg de DDT.

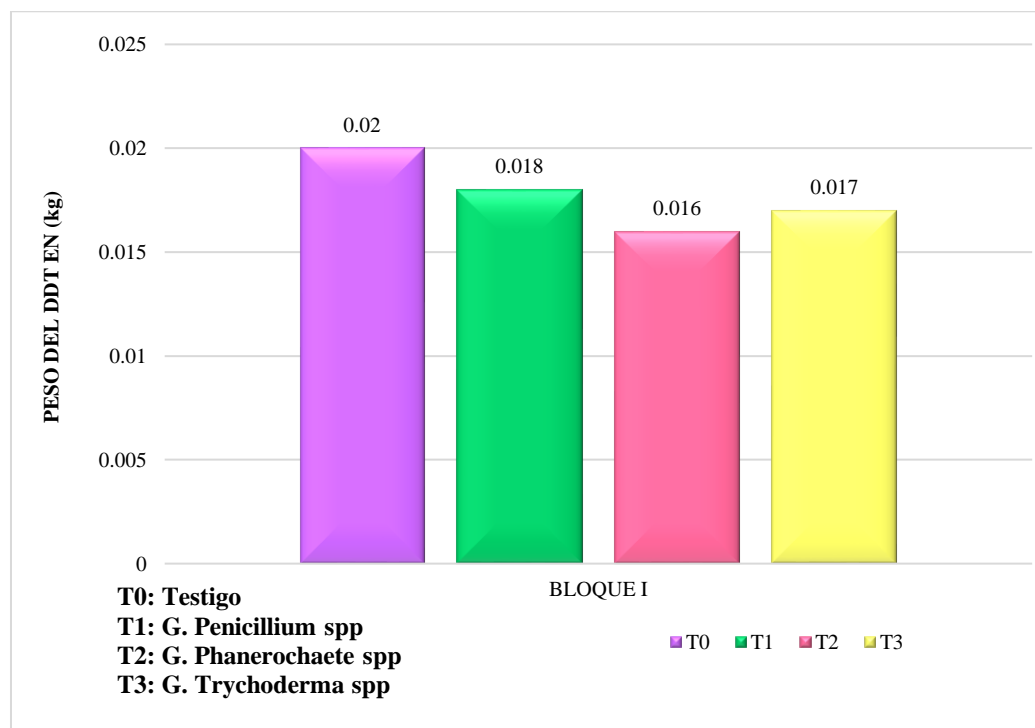


Figura 1. Kg encontrados de DDT Bloque I

Interpretación:

En la figura 1 representa al bloque I se observa que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) ha reducido notablemente el valor inicial de DDT que es de 0.020 kg a 0.016 kg logrando una reducción de 0.004 kg, cultivando en un tiempo de 45 días, sin embargo el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) su reducción fue menor con un valor de 0.018 kg de DDT ante los otros géneros de hongos, la diferencia de disminución entre el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) y el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es de 0.002 kg de DDT y entre el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) y el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) es de 0.001 kg de DDT en este bloque, teniendo una concentración de inóculo de 0.010 g/L de cada hongo respectivamente, se indica también que el testigo se mantiene con el mismo valor inicial.

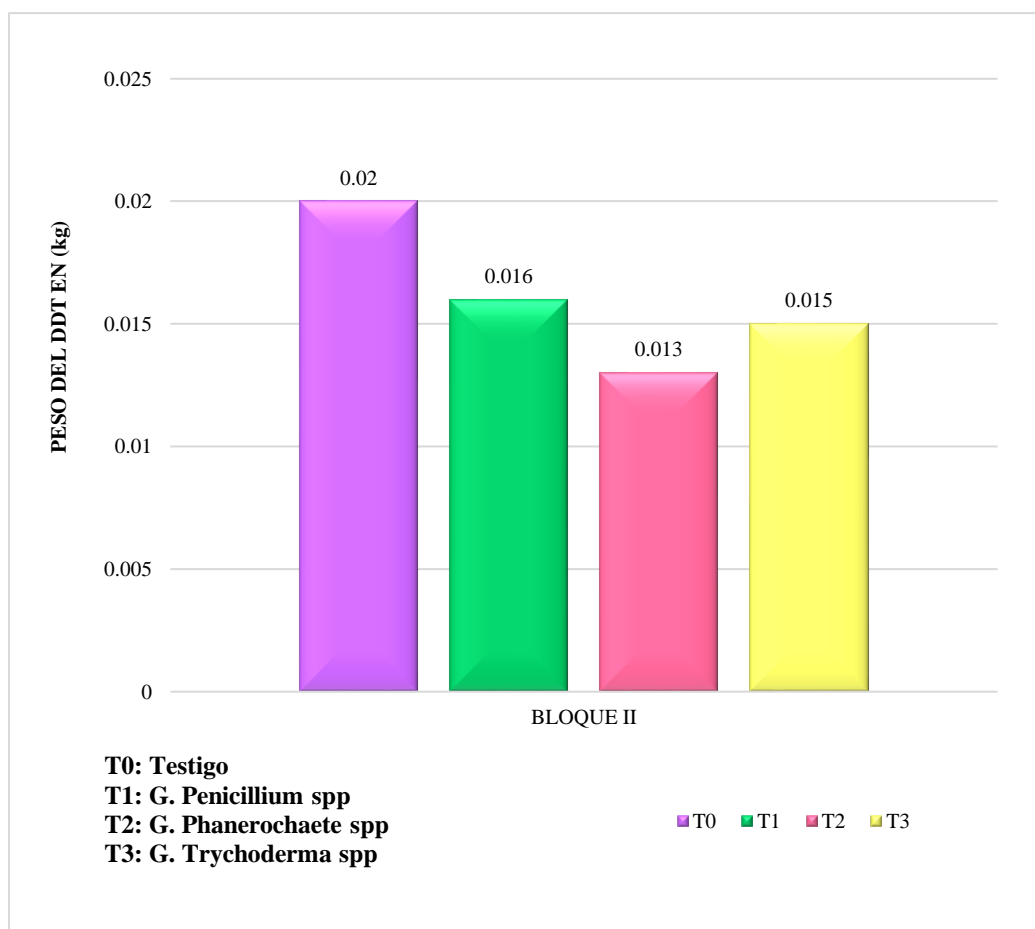


Figura 2. Kg encontrados de DDT Bloque II

Interpretación:

En esta figura se aprecia que el tratamiento 1 (*G. Penicillium* spp) tiene un valor de 0.016 kg de DDT reduciendo un 0.004 kg de DDT el cual indica que es el tratamiento que menos ha disminuido en este bloque, el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete* spp) es el que más ha disminuido ya que tiene un valor de 0.013 siendo la diferencia 0.007 kg de DDT del valor inicial, la reducción de kg de DDT entre el tratamiento 1 (*G. Penicillium* spp) y tratamiento 2 (*G. Phanerochaete* spp) es de 0.003 kg eso indica que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete* spp) ha disminuido 0.003 kg de DDT más que el tratamiento 1 (*G. Penicillium* spp), el tratamiento 3 (*G. Trychoderma* spp) solo ha disminuido 0.005 kg de DDT. Se indica también que el testigo se mantiene con el mismo valor inicial. Por otra parte hay que tener en cuenta que en el bloque II se trabajó con una concentración de 20 g/L de inóculo de cada género de hongo en un tiempo determinado de 45 días de irrigación y aireación.



Figura 3. Kg encontrados de DDT Bloque III

Interpretación:

En la figura 3 se muestra que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) es el que menos ha disminuido es por ello que tiene un valor de 0.013 kg de DDT logrando reducir un 0.007 kg de DDT, el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) tienen el mismo valor y son los que más disminuyeron con un 0.006 kg de DDT en el bloque, la diferencia entre los tratamientos es 0.001 kg de DDT que se pudo disminuir en el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*). Sin embargo el testigo en este bloque se sigue manteniendo con el mismo valor inicial. Hay que indicar también que el bloque III se trabajó con una concentración de 30 g/L de inóculo de cada género en un tiempo determinado de 45 días.

3.2.2. Cantidad de DDT Metabolizado en el primer muestreo

Tabla 2

Cantidad de DDT metabolizado

Resultados DDT final				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0.020 kg	0.018 kg	0.016 kg	0.017 kg
II	0.020 kg	0.016 kg	0.013 kg	0.015 kg
III	0.020 kg	0.013 kg	0.012 kg	0.012 kg
DI – DF = CDM				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0 kg	0.002 kg	0.004 kg	0.003 kg
II	0kg	0.004 kg	0.007 kg	0.005 kg
III	0kg	0.007 kg	0.008 kg	0.008 kg

Fuente: Elaborado por el autor

Interpretación:

En la tabla 2 se muestra la cantidad de DDT metabolizado por los diferentes hongos. El tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) son los hongos que más disminuyeron el DDT con 0.008 kg de reducción de este organoclorado en el bloque III con una concentración de 30 g/L de inóculo, mientras que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) del bloque I con una concentración de 10 g/L de inóculo es el que menos reducción tubo con una cantidad de 0.002 kg de DDT con una concentración de 10 g/L, sin embargo el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) del bloque I es igual su disminución de DDT con el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) en el bloque II siendo la cantidad de 0.004 kg, también podemos decir que el testigo no disminuyo, estos resultados se determinaron en un tiempo de 45 días de irrigación y aireación.

3.2.3. Porcentaje biorremediado por hongos

Tabla 3

Porcentaje de DDT metabolizado

Cantidad de DDT Metabolizado				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0 kg	0.002 kg	0.004 kg	0.003 kg
II	0kg	0.004 kg	0.007 kg	0.005 kg
III	0kg	0.007 kg	0.008 kg	0.008 kg
$(CDM \times 100) / DI = PDM$				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0 %	10%	20%	15%
II	0%	20%	35%	25%
III	0%	35%	40%	40%

Fuente: Elaborado por el autor

Interpretación:

En esta tabla se muestra los respectivos porcentajes obtenidos en el primer análisis de laboratorio el cual indica que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) es el que menor porcentaje de disminución obtuvo en un tiempo de 45 días con un valor de 10 %, mientras que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) obtuvieron el mismo porcentaje con un valor de 40 %.

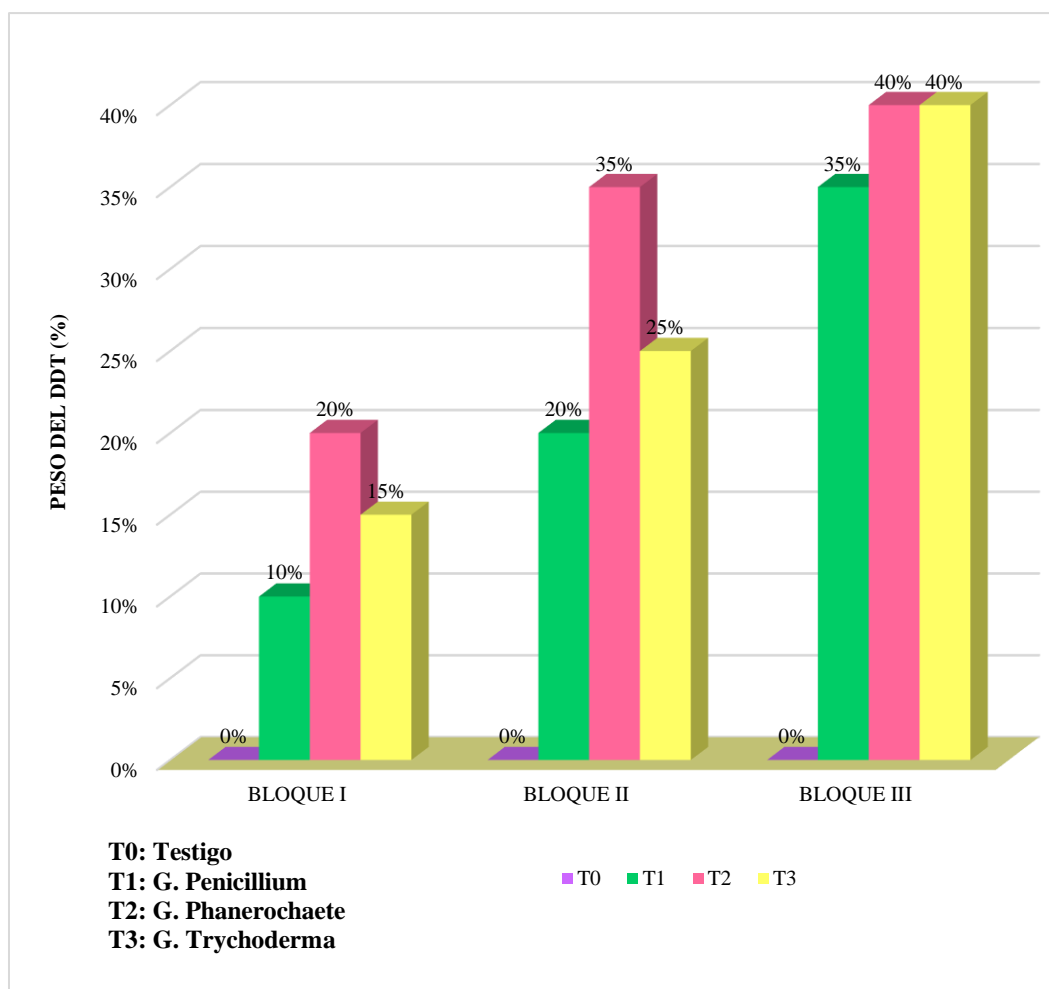


Figura 4. Porcentaje de DDT metabolizado

Interpretación:

En esta figura se aprecia los porcentajes obtenidos en el primer análisis de laboratorio el cual el testigo no tuvo ninguna reducción del organoclorado, mientras que los tratamientos 2 (*G. Phanerochaete spp*) y tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) del bloque III biorremediaron un 40% del total del DDT, también se observa que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) en el bloque II es el que más biorremedió en este bloque con un 35% frente a un 20% que obtuvo el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) y un 25% que obtuvo el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*), por otra parte en el bloque I el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es el que biorremedió más con un 20% frente a un 15% que obtuvo el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) y un 10% que obtuvo el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*), siendo el tratamiento general de este análisis que menos biorremedió al organoclorado.

3.2.4. Concentraciones promedio de DDT en suelos contaminados según género y concentración de hongo aplicado

Tabla 4

Kilogramos promedio de DDT presentes en el suelo (Primer muestreo)

	Testigo	0.020
Género de hongos	<i>Penicillium spp</i>	0.016
	<i>Phanerochaetes spp</i>	0.014
	<i>Trychoderma spp</i>	0.015
Concentración de hongos	10 g/L	0.019
	20 g/L	0.016
	30 g/L	0.014

Nota: datos obtenidos de la tabla 1

Interpretación:

Según los resultados del primer muestreo mostrados en la tabla 4, la mayor concentración de DDT se dio en el género de hongos *Penicillium spp* con 0.016 kg por cada 0.350 kg de suelo muestreado, siendo la menor concentración en el género de hongos *Phanerochaetes spp* con 0.014 kg. Asimismo, se evidencia que cuando se aplica una concentración de hongos de 30 g/L se reduce el DDT del suelo a 0.014 kg.

3.2.5. Diferencias significativas entre géneros de hongos y concentraciones de hongos

Tabla 5

Diferencias significativas entre tratamientos y bloques (primer muestreo)

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad.	Cuadros medios	estadístico F	F crítico
Género de hongos (tratamientos)	0.007	3	0.002	14.737	4.760
Concentraciones de hongos (bloques)	0.002	2	0.001	7.737	5.140
Error	0.001	6	0.00016		
Total	0.010	11			

Nota: datos obtenidos de la tabla 1

Interpretación:

Según los resultados del primer muestreo realizado y que se reflejan en la tabla 5, dado que el estadístico F (14.737) es mayor que el F crítico (4.760), se puede concluir que existen diferencias significativas entre los géneros de hongos en cuanto a su efecto en la biorremediación de suelos contaminados con DDT.

Asimismo, existen diferencias significativas en cuanto al efecto de las concentraciones de hongos en la biorremediación de suelos contaminados con DDT, dado que el estadístico F (7.737) es mayor que el F crítico (5.140).

3.2.6. Determinación del tratamiento óptimo**Tabla 6**

Tratamiento óptimo de biorremediación de suelos con DDT (Primer muestreo)

Medias Tratamientos	T2	T3	T1	T0
	0.014	0.015	0.016	0.020
T2 0.014	--	0.001	0.002	0.06
T3 0.015	--	--	0.001	0.005
T1 0.016	--	--	--	0.004
T0 0.020	--	--	--	--
ALS		0.0252	0.0261	0.0266

Nota: datos obtenidos de la tabla 4

Interpretación:

Según los resultados de la tabla 6, se concluye que el tratamiento 2 (hongos del genero *Phanerochaete spp*) es el óptimo para la biorremediación de suelos contaminados dado que reduce significativamente el DDT.

Asimismo, para la construcción de la tabla 6 se utilizaron las amplitudes del límite de significación según Duncan (ALS), las cuales se obtuvieron de la siguiente manera:

P	2	3	4
AES	3.46	3.58	3.64
$S_x = 0.0073$			
ALS	0.0252	0.0261	0.0266

En cuanto al coeficiente de variación, se obtuvo utilizando la siguiente ecuación

$$CV = \frac{\sqrt{0.00016}}{0.16} \cdot 100 = 7.91\%$$

Dado que el coeficiente es de $7.91\% < 30\%$ entonces se puede concluir que para el primer muestreo realizado el promedio es la medida representativa en cuanto al cálculo del DDT en el suelo, es decir los resultados estadísticamente son confiables. (De Mendiburu, 2005).

3.3. Determinación de dosis máxima y tratamiento optimo a 90 días de evaluación

3.3.1. Resultados de tratamientos en sus respectivos bloques

Tabla 7

Datos obtenidos según muestras de suelo a 90 días

	Bloques	Tratamientos			
		T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I		0.020 kg	0.016 kg	0.013 kg	0.015 kg
II		0.020 kg	0.013 kg	0.007 kg	0.011 kg
III		0.020 kg	0.007 kg	0.003 kg	0.005 kg

Fuente: Elaborado por el autor

Interpretación:

La tabla 7 contiene resultados obtenidos de análisis en el laboratorio, donde se aprecia que en el bloque I con concentración de 10 g/L de inóculo de cada género de hongo, en el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) se ha obtenido el mayor valor (0.016 kg de DDT) siendo el que menor eficiencia ha logrado en un tiempo de 90 días. El que mayor eficiencia ha logrado está en el bloque III con concentración de 30 g/L de inóculo, es el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) con un valor de 0,003 kg de DDT siendo el valor inicial 0.020 kg DDT. En el bloque II los valores también disminuyeron como es el caso del tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) que disminuyo 0.003 kg de DDT más que en el bloque I, así como también el tratamiento 2 (*G.*

Phanerochaete spp) disminuyó 0.006 kg de DDT y el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) disminuyó 0.004 kg de DDT, esta disminución del organoclorado se debe a que su concentración fue de 20 g/L de inóculo de cada género en el bloque II. Por otra parte obtuvimos un valor de 0.013 kg de DDT en el bloque I con el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) y en el bloque II con el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*). Las diferencia que existe en el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) entre el bloque I con el bloque III es de 0.009 kg de DDT, en el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es de 0.010 kg de DDT y en el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) es de 0.010 kg de DDT. También podemos decir que el tratamiento testigo se mantiene intacto con el valor inicial que es de 0.020 kg de DDT.

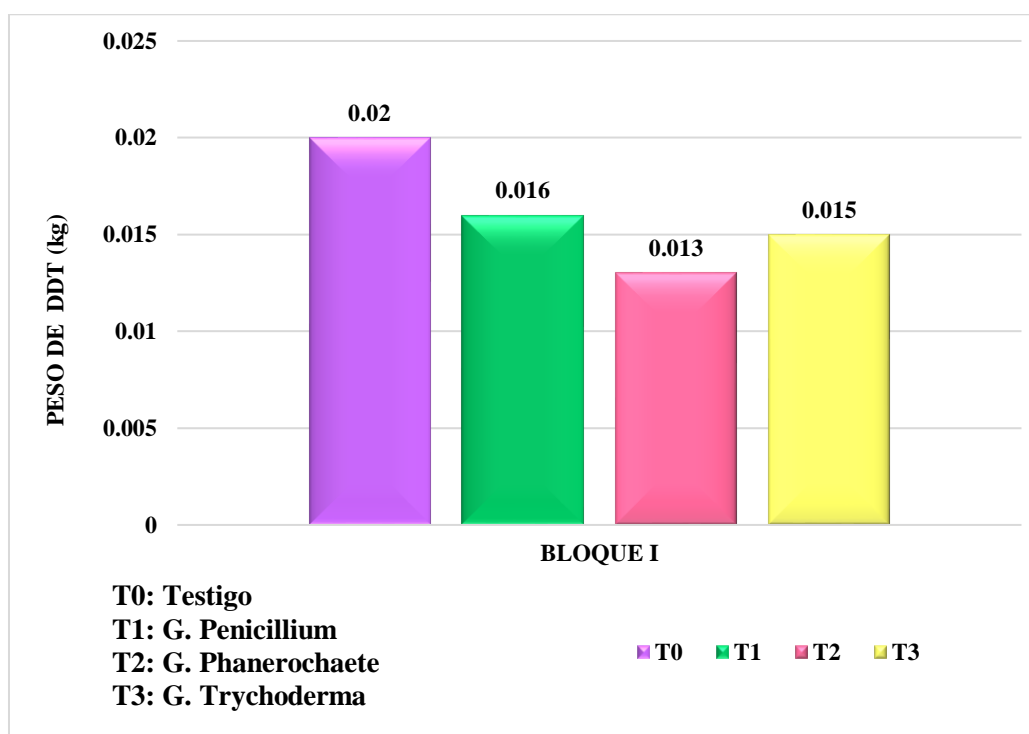


Figura 5. Kg encontrados de DDT Bloque I

Interpretación:

La figura 5 representa al bloque I donde se observa que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) ha reducido notablemente el valor inicial de DDT que es de 0.020 kg a 0.013 kg logrando una reducción de 0.007 kg, cultivando en un tiempo de 90 días, sin embargo el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) su reducción fue menor con un valor de 0.016 kg de DDT ante los otros géneros de hongos, la diferencia de disminución entre el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) y el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es de 0.003 kg de DDT y entre el tratamiento 1 (*G. Penicillium*

spp) y el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) es de 0.001 kg de DDT en este bloque, teniendo una concentración de inóculo de 0.010 g/L de cada hongo respectivamente, se indica también que el testigo se mantiene con el mismo valor inicial.

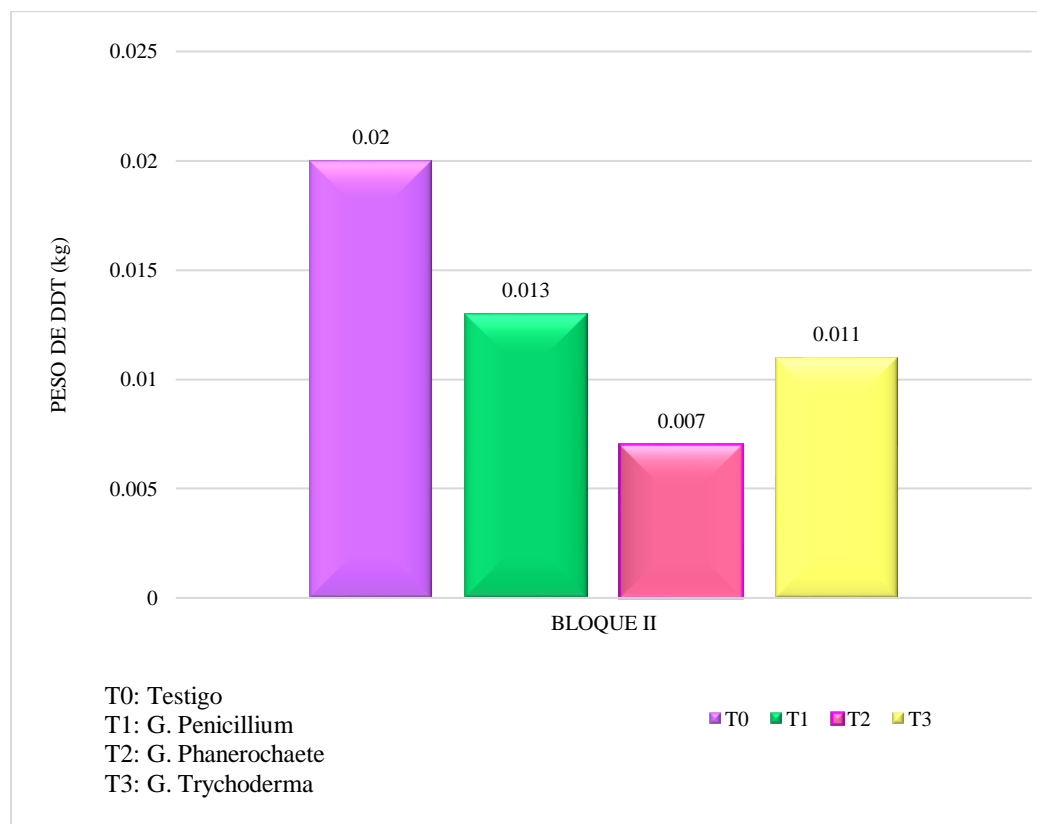


Figura 6. Kg encontrados de DDT Bloque II

Interpretación:

En esta figura 6 se aprecia que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es el que mayor eficiencia ha logrado con un valor de 0.007 kg de DDT, teniendo como valor inicial 0.20 kg de DDT, el tratamiento que menor eficiencia ha obtenido es el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) ya que tiene un valor de 0.013 kg de DDT, mientras que el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) tiene un valor de 0.011 kg de DDT, reduciendo 0.002 kg más que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*), la diferencia que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) ha obtenido en comparación del tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) es de 0.004 kg más de reducción del organoclorado, el testigo no tiene reducción ya que es notable porque su valor es 0.020 kg de DDT en este bloque que se trabajó con una concentración de 20 g/L de

inóculo de cada género de hongo a un tiempo determinado de 90 días de irrigación y aireación.

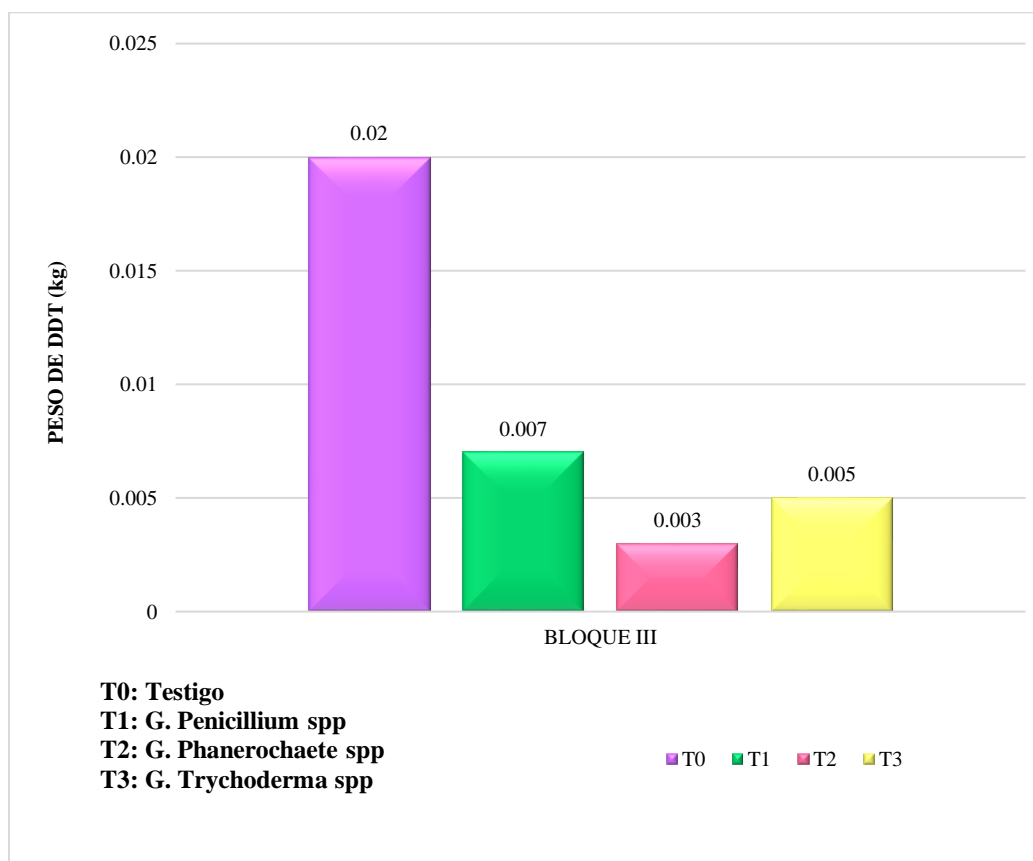


Figura 7. Kg encontrados de DDT Bloque III

Interpretación:

En esta figura se muestra el que menos disminuyó al organoclorado es el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) con un valor de 0.007 kg de DDT teniendo el valor inicial que es de 0.020 kg de DDT, y el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es el que mayor redujo con un valor encontrado de 0.003 kg de DDT, mientras que el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) tiene un valor de 0.005 kg de DDT disminuyendo 0.002 kg de DDT más que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*), sin embargo el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) disminuyó 0.002 más que el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*), el testigo no tiene reducción ya que es notable porque su valor es 0.020 kg de DDT en este bloque que se trabajó con una concentración de 30 g/L de inóculo de cada género de hongo a un tiempo determinado de 90 días de irrigación y aireación.

3.3.2. Cantidad de DDT Metabolizado en el segundo muestreo

Tabla 8

Cantidad de DDT metabolizado

Resultados DDT final				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0.020 kg	0.016 kg	0.013 kg	0.015 kg
II	0.020 kg	0.013 kg	0.007 kg	0.011 kg
III	0.020 kg	0.007 kg	0.003 kg	0.005 kg

DI – DF = CDM				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0	0.004	0.007	0.005
II	0	0.007	0.013	0.009
III	0	0.013	0.017	0.015

Fuente: Elaborado por el autor

Interpretación:

En la tabla 8 se muestra la cantidad de DDT metabolizado por los diferentes hongos. El tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) es el hongo que más reducción obtuvo con un valor de 0.017 kg de DDT, seguido del tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) que obtuvo un 0.015 kg de DDT reducidos en el bloque III con una concentración de 30 g/L de inóculo, mientras que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) del bloque I con concentración de 10g/L de inóculo obtuvo solo 0.004 kg de DDT reducidos. Hay que tener en cuenta también que en el bloque III el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) disminuyó 0.004 kg de DDT más que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) y 0.002 kg del organoclorado más que el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*). También podemos decir que el testigo no disminuyó, estos resultados se determinaron en un tiempo de 90 días de irrigación y aireación.

3.3.3. Porcentaje biorremediado por hongos

Tabla 9

Porcentaje de DDT metabolizado

CANTIDAD DE DDT METABOLIZADO				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0	0.004	0.007	0.005
II	0	0.007	0.013	0.009
III	0	0.013	0.017	0.015

(CDM x 100) / DI = PDM				
Bloques	Tratamientos			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
I	0 %	20%	35%	25%
II	0%	35%	65%	45%
III	0%	65%	85%	75%

Fuente: Elaborado por el autor

Interpretación:

En esta tabla se muestra los respectivos porcentajes obtenidos en el segundo análisis de laboratorio el cual indica que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) es el que menor porcentaje de disminución obtuvo en un tiempo de 90 días con un valor de 20 %, mientras que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) obtuvo un 85 % de reducción del organoclorado siendo el valor mayor de disminución ante los demás tratamientos, mientras que el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) solo alcanzó un 75 % y el testigo no obtuvo ninguna disminución.

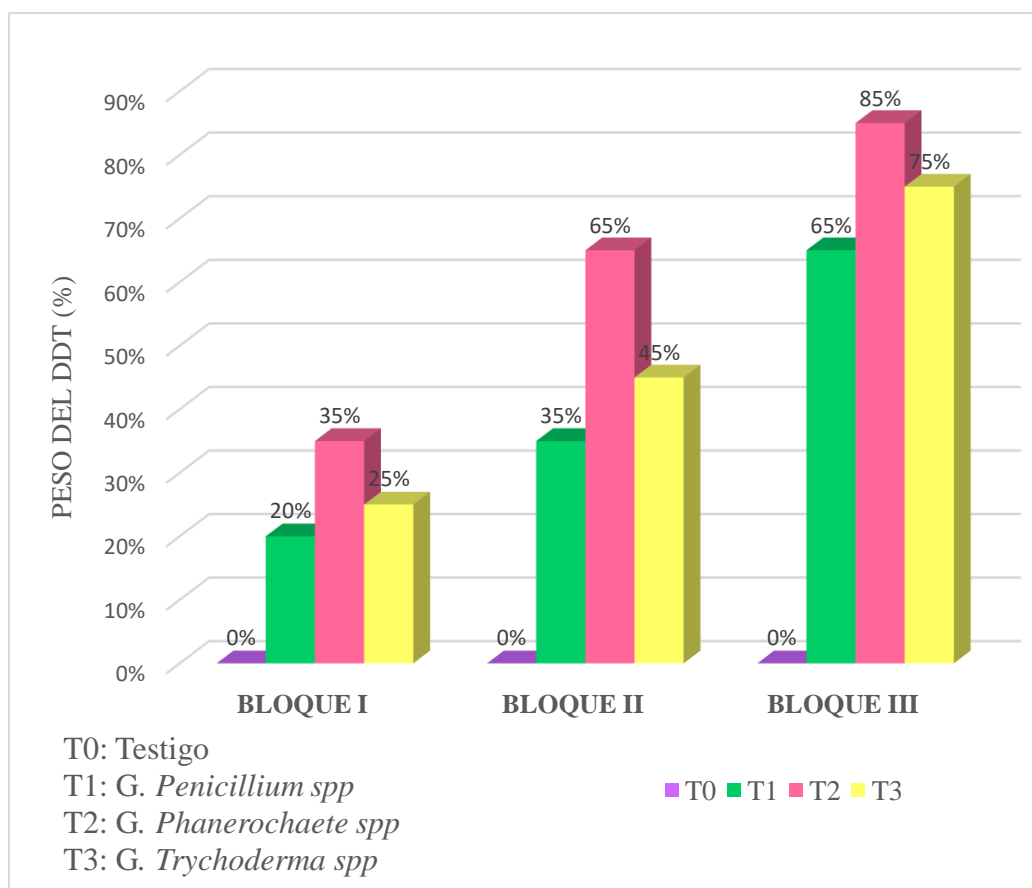


Figura 8. Porcentaje de DDT metabolizado

Interpretación:

En la figura 8 se indica que el tratamiento 1 (*G. Penicillium spp*) es el que menor porcentaje obtuvo en todos los bloques comenzando por el bloque I con una concentración de 10 g/L de inóculo de hongo con 20 % de reducción de DDT, mientras que en el bloque II con una concentración de 30 g/L de inóculo de hongo obtuvo un 65%, por otro lado el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*) del bloque III obtuvo el máximo valor de reducción del organoclorado con un 85 % frente a los demás tratamientos, también observamos que el tratamiento 3 (*G. Trychoderma spp*) solo obtuvo 75 % siendo el 10 % menos que el tratamiento 2 (*G. Phanerochaete spp*), sin embargo el testigo sigue con su valor intacto.

3.3.4. Concentraciones promedio de DDT en suelos contaminados

Tabla 10:

Kilogramos promedio de DDT presentes en el suelo (Segundo muestreo)

	Testigo	0.020
Género de hongos	<i>Penicillium spp</i>	0.012
	<i>Phanerochaetes spp</i>	0.008
	<i>Trychoderma spp</i>	0.010
Concentración de hongos	10 g/L	0.016
	20 g/L	0.013
	30 g/L	0.009

Nota: datos obtenidos de la tabla 7

Interpretación:

Según los resultados del segundo muestreo mostrados de la tabla 10, la mayor concentración de DDT se dio en el género de hongos *Penicillium spp* con 0.012 kg por cada 0.350 kg de suelo muestreado, siendo la menor concentración en el género de hongos *Phanerochaetes spp* con 0.008 kg. Asimismo, se evidencia que cuando se aplica una concentración de hongos de 30 g/L se reduce el DDT del suelo a 0.009 kg.

3.3.5. Diferencias significativas entre géneros de hongos y concentraciones de hongos

Tabla 11

Diferencias significativas entre tratamientos y bloques (Segundo muestreo)

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad.	Cuadrados medios	estadístico F	F crítico
Género de hongos (tratamientos)	0.025	3	0.008	13.410	4.760
Concentraciones de hongos (bloques)	0.011	2	0.005	8.366	4.757
Error	0.004	6	0.00063		
Total	0.040	11			

Nota: datos obtenidos de la tabla 7

Interpretación:

Según los resultados del segundo muestreo realizado 45 días después del primer muestreo, y cuyos resultados se reflejan en la tabla 11, dado que el estadístico F (13.410) es mayor que el F crítico (4.760), se puede concluir que existen diferencias significativas entre los géneros de hongos en cuanto a su efecto en la biorremediación de suelos contaminados con DDT.

Asimismo, existen diferencias significativas en cuanto al efecto de las concentraciones de hongos en la biorremediación de suelos contaminados con DDT, dado que el estadístico F (8.366) es mayor que el F crítico (5.140).

3.3.6. Determinación del tratamiento óptimo**Tabla 12**

Tratamiento óptimo de biorremediación de suelos con DDT (Segundo muestreo)

Medias Tratamientos	T2 0.008	T3 0.010	T1 0.012	T0 0.020
T2 0.008	--	0.002	0.004	0.012
T3 0.010	--	--	0.002	0.010
T1 0.012	--	--	--	0.008
T0 0.020	--	--	--	--
ALS		0.0502	0.0519	0.0528

Nota: datos obtenidos de la tabla 10

Interpretación:

Según los resultados de la tabla 12, se concluye que el tratamiento 2 (hongos del género *Phanerochaete spp*) es el óptimo para la biorremediación de suelos contaminados dado que reduce significativamente el DDT.

Asimismo, para la construcción de la tabla 12 se utilizaron las amplitudes del límite de significación según Duncan (ALS), las cuales se obtuvieron de la siguiente manera:

P	2	3	4
AES	3.46	3.58	3.64
$S_x = 0.0145$			
ALS	0.0502	0.0519	0.0528

En cuanto al coeficiente de variación, se obtuvo utilizando la siguiente ecuación:

$$CV = \frac{\sqrt{0.00063}}{0.13} \cdot 100 = 19.31\%$$

Dado que el coeficiente es de $19.31\% < 30\%$ entonces se puede concluir que para el segundo muestreo realizado el promedio es la medida representativa en cuanto al cálculo del DDT en el suelo, es decir los resultados estadísticamente son confiables. (De Mendiburu, 2005).

3.4. Protocolo de descontaminación de DDT por los tres géneros de hongos

La propuesta de protocolo propuesto para la descontaminación de suelos con DDT por tres géneros de hongos (T, P y P), según los resultados obtenidos consta de las siguientes fases:

1. Ambientar un lugar donde se realizará el proyecto, construyendo una pequeña casa para que la ejecución se lleve bajo sombra.
2. Preparar el medio de cultivo: Preparar 200 mL de medio de cultivo para hongos en agar Sabouraud y realizar el proceso de plaqueado y esterilización a $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ en un autoclave.
3. Recolectar, las cepas de hongos nativos: Recolectar en lugares húmedos; para *Penicillium spp* de naranjas en pudrición, *Phanerochaete spp* en troncos descompuestos y *Trichoderma spp* en raíces descompuestas.
4. Aislar y sembrar las cepas de hongos: utilizar 10 mL de agua destilada para homogenizar y luego repicar en el agar Sabouraud los respectivos géneros de hongos.
5. Identificar los géneros de hongos biorremediadores: Identificar mediante la técnica de observación directa mediante un microscopio caracterizando según su morfología.

6. Caracterización de la concentración de suelos contaminados con DDT: Esta caracterización se hace mediante un análisis de laboratorio del suelo contaminado.
7. Inocular las cepas de los géneros de hongos biorremediadores en las parcelas de tratamiento: Preparar 03 L de inóculo de cada género a diferentes concentraciones, utilizando Solución Salina al 0,9 %. La inoculación se hace de manera directa y vertido directo, se coloca un litro de inocuo de cada género utilizando solución salina para evitar confundirse y permitir contener condición isotónica a la célula, la concentración fue de 10 g para cada género de hongo en el bloque I, 20 g para el bloque II y 30 g para el bloque III.
8. Evaluar los suelos contaminados con DDT: Consta de tres meses utilizando el método de irrigación para mantener las condiciones de humedad, tomando muestras cada 45 días por dos veces y enviarlas a un laboratorio para ser analizadas y verificar si se está biorremediando el suelo.

3.5. Discusión de resultados.

- ✓ Una consecuencia del prolongado uso de DDT durante muchos años atrás en el Perú específicamente en la región San Martín fue la contaminación de los suelos y el ambiente. Los residuos de este compuesto químico aún persisten en el suelo, convirtiéndose en una amenaza a la salud humana y animal. Para eliminar éste contaminante y sus productos de degradación del suelo, en el presente trabajo se utilizaron hongos nativos provenientes de madera en descomposición, raíces en descomposición y frutos de naranjas en putrefacción. En este estudio se ha demostrado la habilidad degradativa de hongos nativos en suelo contaminado por el organoclorado DDT.
- ✓ Según (Betancur, 2013), el tratamiento por bioestímulo permitió reducir la concentración de DDT en un 94.3% mientras que en el control por atenuación natural solo se obtuvo una remoción de 4.28 % durante ocho semanas, logrando que el tratamiento por bioestímulo es efectivo. Mientras que en esta investigación se utilizó el método de irrigación para darle la comodidad a cada género de hongo según su medio de vida adicionando el agua para mantener las condiciones de humedad adecuadas a la biorremediación, ya que los microorganismos una humedad adecuada

para su desarrollo teniendo en cuenta que una inadecuada cantidad de agua podría restringir severamente la biorremediación en superficies terrestres ya que es muy común que pierdan la humedad es por ello que la aplicación fue cada dos días durante las 13 semanas de observación, con una reducción de 40 % a los 45 días y un 85 % a los 90 días según los géneros que más biorremediaron.

Según este autor hizo la identificación bioquímica y molecular de las bacterias que predominaron durante la biorremediación el cual identificó bacterias como: *Bacillus thuringiensis*, *Flavobacterium* sp., *Phenylobacterium* sp. y *Bosea* sp, en cambio en este estudio los hongos se identificaron antes del proceso de biorremediación ya que se tenía destinado trabajar con estos tres géneros de hongos que son *Penicillium* spp, *Phanerochaete* spp y *Trichoderma* spp.

- ✓ Se obtuvieron 13 cepas de hongos filamentosos no ligninolíticos, de la paja de trigo molida se aislaron siete cepas, cuatro de suelo agrícola y dos trozos de paja de trigo que son: *Fusarium proliferatum*, *F. succisae*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. equiseti*, *Penicillium janthinellum*, *Mucor circinelloides*, *Alternaria alternata*. Las cepas aisladas y las tres cepas de referencia (PC, TRI y TV) mostraron diferentes grados de tolerancia a endosulfan, clorpirifós y clorotalonil (Stamatiu, 2013), sin embargo los géneros *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Trichoderma* mostraron diferencias significativas en cuanto a su efecto en la biorremediación de suelos contaminados con DDT.
- ✓ Cruz (2003) Comprobó la actividad degradativa que tiene el hongo de pudrición blanca *P. chrysosporium* sobre el plaguicida organoclorado DDT. A la temperatura de 39°C, se obtiene que el DDT en tres muestras de suelo presentaron porcentajes de volatilización mayores al 30%. El olote de maíz utilizado como fuente primaria de carbono para el microorganismo en los experimentos de degradación de DDT en suelos, funcionó adecuadamente, ya que el desarrollo fúngico fue bueno. Mientras que en esta investigación se comprobó que todos los géneros utilizados degradaron al organoclorado en diferentes cantidades, a temperatura ambiente, teniendo en cuenta la comodidad que se realizó para que estos se adecuen al medio donde se llevó a cabo el estudio funcionando así adecuadamente el desarrollo del hongo y la biorremediación del suelo.

- ✓ La investigación se realizó con suelo contaminado que no se obtuvo de ningún cultivo que se haya utilizado organoclorados por algunas plagas, sin embargo obtuvimos biorremediación de estos por parte de los tres géneros de hongos. Por otro lado los suelos que contienen diferentes tipos de cultivos se detectaron los plaguicidas siguientes: p, p'-DDT, p, p'-DDD, endosulfan I y II, alfa y beta hexaclorociclohexano, donde se observa que el cultivo de caña presenta la mayor concentración de p, p'-DDT tanto a los 20 cm como a los 40 cm, la presencia en las tierras de cultivo se debe al uso actual de insecticidas en ese lugar según (Escobar, 2000).

- ✓ Los suelos contaminados con hidrocarburos o con diferentes contaminantes son tratados, el cual disminuyen la contaminación en este caso se empleó aserrín y estiércoles orgánicos que mediante una biorremediación de microorganismos estos contaminantes se reducen (Buendía, 2012), mientras que en la investigación realizada tenemos claro con que microorganismos se trabajó que son *Penicillium*, *Phanerochaete* y *Trichoderma* el cual biorremediaron suelos contaminados con DDT en diferentes cantidades.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Se ha determinado que los géneros de hongos *Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp* suelen descontaminar suelos con DDT de manera significativa, siendo el género *Phanerochaetes spp* el más eficiente con 85 % de descontaminación, seguido del género *Trichoderma spp* con 75 % y *Penicillium spp* con 65 %.
- Se han aislado en agar saboraud e identificado tres géneros de hongos: *Phanerochaetes spp* de troncos húmedos en descomposición, *Trichoderma spp* de raíces en descomposición y *Penicillium spp* de naranjas descompuestas, por sus principales características morfológicas mediante el método de la observación directa.
- Según la evaluación de este proyecto la dosis máxima para los dos resultados en diferentes tiempos es de 30 g/L de inóculo para los tres géneros de hongos nativos ya que tenemos los primeros resultados a un tiempo de 45 días de evaluación como un 30 % de descontaminación que obtuvo el género *Penicillium spp*, y un 40% que obtuvieron los géneros *Phanerochaete spp* y *Trichoderma spp*, mientras que en el segundo resultado tenemos como un 65 % de descontaminación que obtuvo el género *Penicillium spp*, 85 % el género *Phanerochaete spp* y un 75 % el género *Trichoderma spp* en un tiempo determinado de 90 días se logró estos resultados ya que los hongos tuvieron la comodidad de adecuarse al medio según su modo de vida.
- El tratamiento óptimo en el primer resultado y el segundo para la biorremediación de suelos contaminados dados que reduce significativamente el DDT es el tratamiento 2 con el género de hongo *Phanerochaete spp*, según la matriz de diferencias.
- Se ha elaborado la propuesta de protocolo, para la descontaminación de suelos con DDT por tres géneros de hongos (*Penicillium spp*, *Phanerochaetes spp* y *Trichoderma spp*) según los resultados obtenidos, la cual consta de las (07) siguientes fases: Preparación de medio de cultivo, recolección, de las cepas de hongos nativos, aislamiento y sembrado de las cepas de hongos, identificación de los 03 géneros de hongos biorremediadores, caracterización de la concentración de suelos contaminados con DDT, inoculación de las cepas de los 03 géneros de hongos biorremediadores en las parcelas de tratamiento y evaluación de los suelos contaminados con DDT.

Recomendaciones

- Para otras investigaciones se recomienda a la Facultad de Ecología considerar la temperatura y humedad cada semana del suelo, y tomar muestras desde el inicio de la evaluación para así tener un control de la concentración del contaminante.
- Se recomienda a la Universidad Nacional de San Martín seguir investigando que para diseñar correctamente un sistema de tratamiento *in situ* hay que contar con un amplio conocimiento de las características del suelo y una serie de ensayos biogeotécnicos para determinar factores como ubicación exacta en profundidad del contaminante y de esa manera ubicar los microorganismos biorremediadores en el lugar exacto donde se encuentra el contaminante, y de esa manera tendríamos una información más a fondo para poder evaluar sin ningún problema durante una ejecución.
- Se recomienda a investigadores de la Facultad de Ecología que previo a la evaluación, es necesario un estudio de tratabilidad tanto a nivel de laboratorio como a nivel de campo, utilizando muestras representativas de los suelos contaminados para determinar aspectos importantes como: la especie o cepa que sea aplicable a las condiciones que se presentaran en el suelo, la cantidad del nutriente u otros suplementos que están incorporados al suelo.
- Se recomienda a los estudiantes de la carrera que este proyecto sirva como referencia para seguir investigando en temas de descontaminación como parte de la formación y el que hacer del ingeniero ambiental, ya que los suelos en la actualidad son fuente de vida para la supervivencia de las futuras generaciones, si estos se ven afectados por contaminantes que siguen persistiendo a pesar de que estos fueron introducidos años atrás, en un futuro sufriremos de escasez de recursos alimenticios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alarcon, A. (2009). Los géneros fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. México.
- Albert, L. (1990). Los plaguicidas y sus efectos en el ambiente y la salud. Centro de Ecodesarrollo.
- Alexander, M. (1981). Biodegradación de productos químicos de preocupación ambiental. Nueva York.
- Alexopoulos, C.J., Mims, C.W. (1996). Micología Introductoria. New York.
- Alvarez, S. (2013). Producción Artesanal y Control de Calidad del hongo antagonista *Trichoderma*. Argentina. Editorial San Salvador de Jujuy.
- Arango, A. (2007). Técnicas de bioestimulación. Colombia.
- Betancur, B. (2013). *Biorremediación de suelo contaminado con el pesticida 1,1,1-tricloro-2,2'bis(p-clorofenil)etano (DDT) mediante protocolos de bioestimulación y adición de surfactante*. Tesis Doctoral sin publicar, Universidad Nacional de Colombia, Medellín.
- Bissett, J. (1991). Revisión del Género *Trichoderma*. III. Sección *Pachybasium*. México
- Boada, D. Prácticas de biología general. 1ª edición 1998. Edición Centro de Publicaciones Universalle. Bogotá.
- Bocanegra, F.A. (1999). Bases Metodológicas de la investigación científica. Publiciencia UNT.
- Boopathy, R. (2000). Los factores que limitan las tecnologías de biorremediación. Tecnología de Biorrecursos. Argentina.
- Bourdot, (1978), clasificación taxonómica de *Phanerochaete*.
- Boyd, R. (2004), Control de insectos actuando como neurotóxicos. Estados Unidos.
- Brombacher, C. (1998) Desarrollo de una planta de lixiviación a escala de laboratorio para la extracción de metales a partir de cenizas volantes por *Thiobacillus* cepas.
- Brown, W. (1978). Ecología de los plaguicidas. 1º Ed. New York.
- Buendía, H. (2012). *Biorremediación de suelos contaminados por hidrocarburos mediante el compost de aserrín y estiércol*. Instituto de la Investigación. Lima.
- Bumpus, J. A. (1988). Biodegradación de hidrocarburos aromáticos policíclicos por *Phanerochaete Chrysosporium*.
- Bumpus, J. A. y Aust, S.D. (1987). Biodegradación de compuestos orgánicos clorados por *Phanerochaete Chrysosporium*, un hongo de pudrición de la madera. EE.UU.

- Bumpus, J. A. (1985). La oxidación de los gases contaminantes ambientales persistentes por un hongo de la pudrición blanca. Washington.
- Carrasco, G (2010). *Biorremediación de Aguas y Suelos contaminados con Petróleo*. Institución Educativa Ofelia Velásquez. Tarapoto.
- Carrillo, L. (2013). Los hongos de los alimentos y forrajes. Argentina Publicado por UNS.
- Coreal, R. (2006). Métodos *in situ*. Colombia.
- Corona, A. (1999). Biodegradación anaeróbica-aeróbica del DDT (diclorodifenil tricloroetano) en suelos. Boletín de contaminación ambiental y toxicología. Argentina.
- Cruz, M. (2003). *Biodegradación del DDT [1,1,1-tricloro-2,2-bis(4 clorofenil)etano] en suelos agrícolas, por el hongo de pudrición blanca Phanerochaete chrysosporium*. Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- De Mendiburu, F. (2005). Diseños experimentales. UNALM. Perú.
- Departamento de salud y servicios humanos (2002), Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Estados Unidos.
- Di Paola, M. (2010). Biorremediación: Vinculaciones entre investigación, desarrollo y legislación. Buenos Aires.
- Escobar González José Luis, (2000), Caracterización de suelos contaminados con plaguicidas organoclorados, para su biorremediación. México.
- Ganey, P. E., Boyd, S. A. (2004). Una aproximación a la evaluación del efecto de la biorremediación sobre la actividad biológica de los contaminantes ambientales: Decloración de los bifenilos policlorados.
- Garrison, A. (2000). Fitodegradación de p -p- DDT y los enantiómeros de o, p - DDT.
- Gaur, A. C. (1970). Efecto de difenil dicloro (DDT) simbiosis de *Rhizobium sp*, con *Phaseolus aureus*. Plantas y el suelo. Colombia.
- Glazer, A.N. y Nikaido, H. (1995). Biotecnología Microbiana: Fundamentos de la Microbiología Aplicada. Nueva York.
- Hayes W. (1982). Los plaguicidas organoclorados. Barcelona.
- Iturbe, R. (2010). Biorremediación como método. Mexico.
- Kantachote, D. (2000). Efectos de la contaminación a largo plazo del DDT sobre la microflora del suelo, con especial referencia a las algas del suelo y la transformación de las algas del DDT, Japón.
- Kylin, H. (2003). La acumulación de hexaclorociclohexanos el aire y el DDT en las agujas de pino. Bogotá.

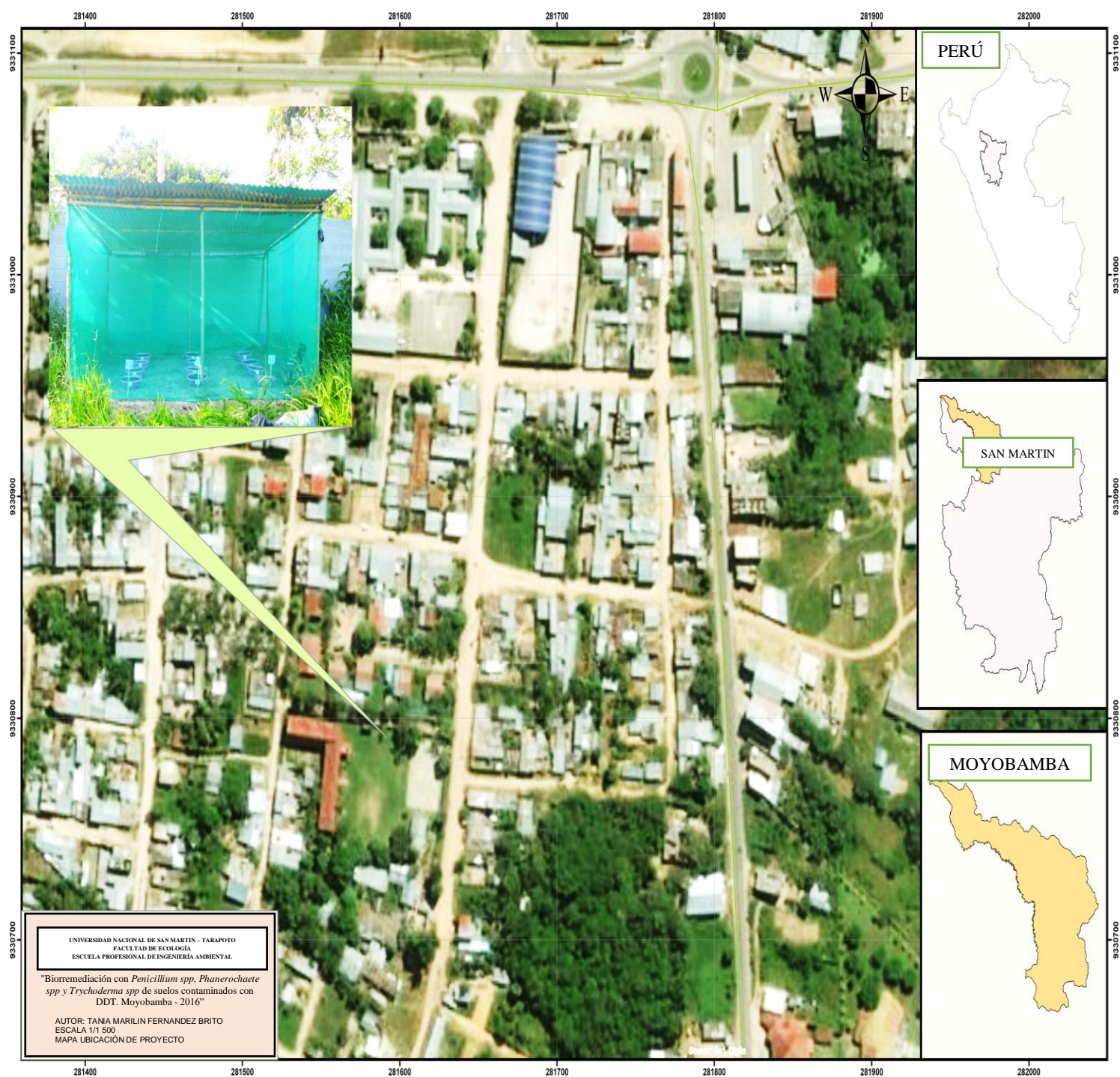
- Leary, (1995), La historia de una molécula.
- Link. (1809), *Penicillium*. Fundación bioquímica de argentina.
- Lubitz, A. (2004), Modo de acción de los pesticidas. Colombia.
- Lundmark, C. (2002). Los avances en la biorremediación. México.
- Martínez, S. (2005). Contaminación del suelo. Francia.
- Martínez, T. (1998). Introducción a la microbiología. México.
- Maza, C. (1991). Enseñanza de la suma y la resta. Madrid
- Miller, R. (1996). Procesos biológicos que afectan el destino de contaminantes. Ciencias de la contaminación. Nueva York.
- Mueller, G. (2004). Biodiversidad de hongos. España
- Paul, E.A. y Clark, F.E. (1996). Suelo microbiología y química. 2 ed. Colombia
- Pérez, R. (1997). Degradación de los clorofenoles, por *Phanerochaete chrysosporium*. España.
- Pfaender, F. K., Alexander, M. (1973). Efecto de la adición de nutrientes sobre la aparente cometabolismo del DDT. Diario de la química agrícola y alimentaria.
- Piédrola, G. (1947). Valor profiláctico de los modernos desinfectantes, volumen 2. New York.
- Qlynn, H y Heinke, G. (1999). Ingeniería Ambiental. México.
- Review. (2010). In situ y la biorremediación de contaminantes orgánicos en los sedimentos acuáticos. Diario de materiales peligrosos.
- Sánchez, J. (2000). Degradación de enzimas. Panamá.
- Schwedt, G. (2001). La guía esencial para la química ambiental. 1ª ed. España.
- Score A. J. y Palfreyman J.W. (1994). El control biológico de los hongos secos pudrición *lacrymans Seprula* por *Trichoderma spp*: Los efectos de los medios complejos y sintéticos en la interacción y de hifas con velocidades de extensión. Colombia.
- Seagren, E. A. (2008). La biorremediación in situ en medios porosos heterogéneos Escenario limitada por la dispersión. Ciencias del Medio Ambiente y la Tecnología.
- Semple, K. (2007). Interacciones microbianas con contaminantes orgánicos en el suelo: definiciones, procesos y medición. Contaminación ambiental. Argentina.
- Shannon M.J.R. y Unterman K. (1993). Evaluación de biorremediación. Argentina.
- Smatiu, S. (2013), Tolerancia y biodegradación de plaguicidas con hongos filamentosos.
- Smith, S. A (1960). Multiusos en conjunto de colector: utilizando en la evaluación de los efectos de los plaguicidas microbiológicos. Ciencia del Suelo.
- Sparks, D.L. (1996). La química del suelo del medio ambiente. Academia Press. Medellín.

- Thor, G (1997). Microbiología del Suelo moderna. New York.
- Vergnaud, G. (1983). Adquisición de conceptos y procesos matemáticos. Madrid
- Vigano, L. (2000). La evaluación de la toxicidad de los sedimentos del río Po con *Ceriodaphnia dubia*. Toxicología acuática.
- Waid, J. (1999). ¿La biodiversidad del suelo depende de actividad metabiótica e influencias? Colombia.
- Widden, P. y Scattolin V. (1988). Interacciones competitivas y estrategias ecológicas de las especies de *Trichoderma* que colonizan la camada de abeto. Mycologia. México.
- Wilkinson, C. (1976). Bioquímica y fisiología de insecticidas. USA
- Zellinger, D. (2004). La tecnología fantasma bacteriana para la entrega de plaguicidas. Diario de la química agrícola y alimentaria.
- Zhang, J. (2008). Efecto de la actividad microbiana, contenido de agua del suelo y el cobre añadido en los patrones de distribución temporal de HCB y DDT entre las diferentes fracciones de materia orgánica del suelo. Contaminación ambiental. Estados Unidos.

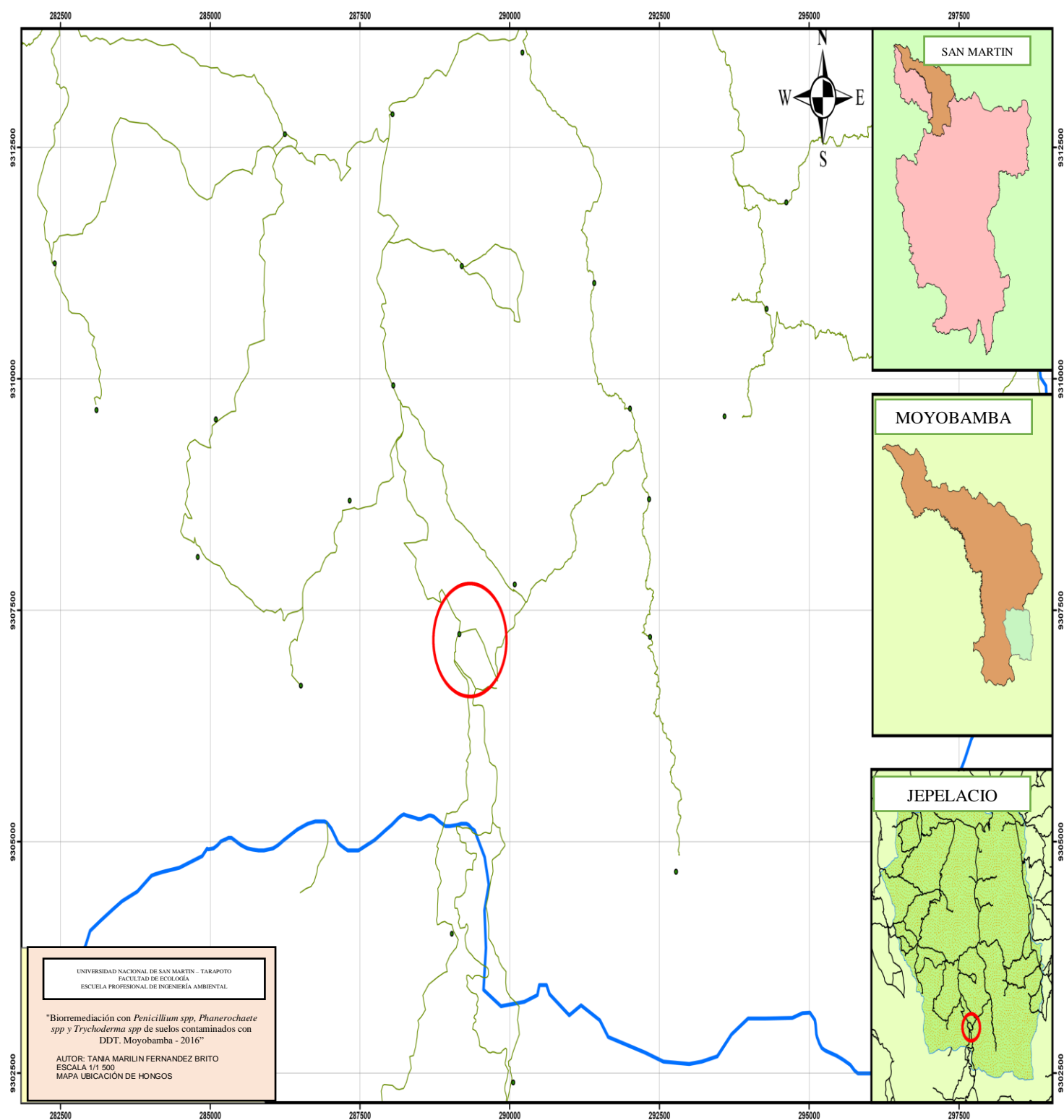
ANEXOS

Anexo A: Ubicación geográfica

Anexo 1 A: Mapa de ubicación de proyecto



Anexo 2 A: Mapa de ubicación de hongos



Anexo 3 A: Mapa de ubicación de puntos donde se recolectó el suelo

Anexo B: Ubicación donde se llevó a cabo la investigación



Anexo 1B: Limpieza del área

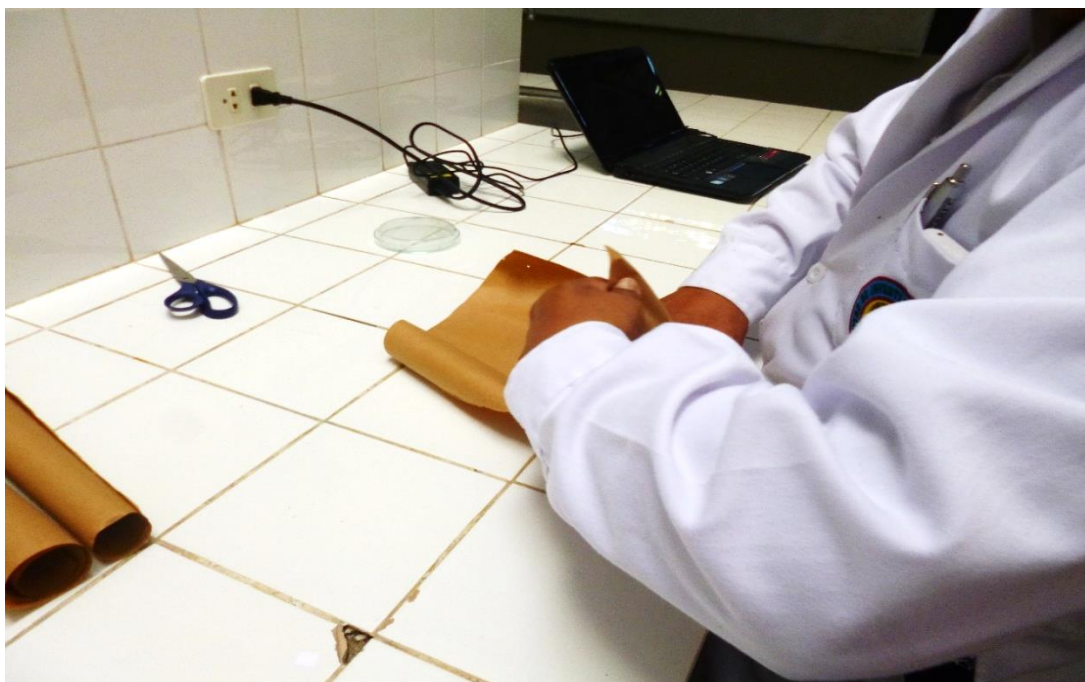
Fuente: Fotografía tomada por Kelith Perales Vásquez



Anexo 2B: Casa lista para la investigación

Fuente: Fotografía tomada por Kelith Perales Vásquez

Anexo C: Proceso de plaqueado y esterilización de las placas



Anexo 1C: Plaqueado de la Placas Petri
Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 2C: Esterilización de las placas
Fuente: Fotografía tomada por el Blgo. Luis E. Rodríguez Pérez

Anexo D: Recolección de las cepas de hongos



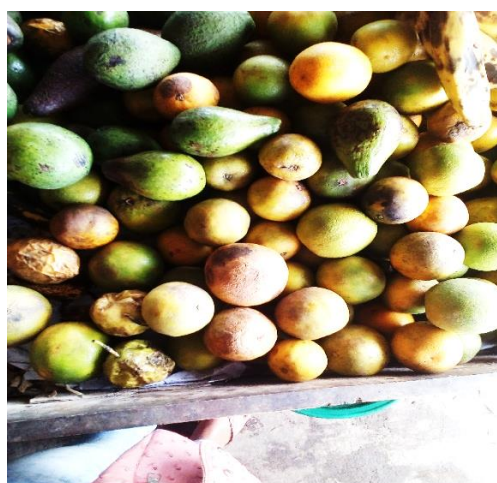
Anexo 1D: Hongo *Trichoderma* encontrado en una chacra (Alto Carrizal)

Fuente: Fotografía tomada por la tesista



Anexo 2D: Hongo *Phanerochaete*

Fuente: Fotografía tomada por la Tesista
Tesista



Anexo 3D: Hongo *Penicillium*

Fuente: Fotografía tomada por la

Anexo E: Aislamiento de los hongos



Anexo 1E: Aislamiento de *Penicillium*
Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 2E: *Phanerochaete*
Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 3E: *Trichoderma*
Fuente: Fotografía tomada por la Tesista

Anexo F: Siembra de hongos en el laboratorio y crecimiento del mismo



Anexo 1F: Siembra con ayuda de una jeringa

Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 2F: Genero *Penicillium*

Fuente: Fotografía tomada por la Tesista

Anexo G: Preparación de los suelos e inserción de los hongos respectivos



Anexo 1G: Ubicación de las tinas con tierra según el diseño

Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 2G y 3G: Contaminación de tierra para ser biorremediada por hongos

Fuente: Fotografía tomada por Kelith Perales Vasquez.



Anexo 4G: Concentración de hongo
Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 5G y 6G: Inóculo a diferentes concentraciones
Fuente: Fotografía tomada por el Blgo. Luis E. Rodríguez Pérez

Anexo H: Muestreo para ser analizados en el laboratorio



Anexo 1H: Peso de la muestra

Fuente: Fotografía tomada por la Tesista



Anexo 2H y 3H: Muestras selladas y tecnopor sellado para ser enviado a laboratorio

Fuente: Fotografía tomada por la Tesista

Anexo I: Resultados de laboratorio “BALTIC CONTROL”



INFORME DE ENSAYO N°4989/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26262 - N° Muestra: 4989/2017 - Suelo / T0 / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,02

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Blgo. Mblgo. Soledad E. Tardápan Gonzales
Gerente de Laboratorio
D.B.P. 9097



Clave de Validación: 8c708f21677c4fd6b210fa4af174ae6e

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4990/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26263 - N° Muestra: 4990/2017 - Suelo / T1 / *Penicillium* / B I / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,018

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. Mago. Sonia E. Tandiapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación:

2c0f09c33d264ad8b2bfbd3c8fa39d97

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

Muestra Id: 26264 - N° Muestra: 4991/2017 - Suelo / T1 / *Penicillium* / B II / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---**Fecha Recepción:** 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada

Condición de la muestra: Temperatura ambiente

Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente

Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Análisis

Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,016

Método de Análisis

Método de Referencia

DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica
--------------	---

Laboratorio de Ensayo
Sistema Controlado
C.B.P. 9097
Blgo. Mblgo. Sección E. Tardávan González
Gerente del Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: c95ce93e737746d7bd7aa024b57a84b1

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

 ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4992/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26265 - N° Muestra: 4992/2017 - Suelo / T1/ Penicillium / B III / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,013

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica


 Blgo. Mblgo. Sonia E. Tandapan Gonzales
 Gerente de Laboratorio
 D.B.P. 9097



Clave de Validación: 4a33a1d591504f27ababf3083a3cdcf2

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4994/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26267 - N° Muestra: 4994/2017 - Suelo / T2 / Phanerochaete / B I / Una (01) unidad de 350g aprox.	
Fecha de Emisión: ---	Fecha Recepción: 31/07/2017
Presentación: Envase de plástico sellada Condición de la muestra: Temperatura ambiente Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017	

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,016

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica


Blgo. Mblgo. Sonia E. Tancápan Gonzales
Gerente de Laboratorio
D.B.P. 9097



Clave de Validación: 0730baed833b4c59b0ab06a112b7646c

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A. Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente. Los resultados corresponden al objeto ensayado. Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4995/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26268 - N° Muestra: 4995/2017 - Suelo / T2 / *Phanerochaete* / B II / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,013

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. Mblgo. Soledad E. Tandiapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: ec6e9ec958ee4ca7abdb9a7c550bab81

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4996/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26269 - N° Muestra: 4996/2017 - Suelo / T2/ Phanerochaete / B III / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,012

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Handwritten signature:
 Laboratorio de Ensayo
 Baltic Control
 Blgo. Mblgo. Sofia E. Tandeipan Gonzales
 Gerente de Laboratorio
 D.B.P. 9097



Clave de Validación: da56856d936a4816926e13a930c98804

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4998/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26271 - N° Muestra: 4998/2017 - Suelo / T3 / Trychoderma / B I / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,017

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Handwritten signature and stamp:
Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Blgo. Mblgo. Sonia E. Tandiapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
D.B.P. 9097



Clave de Validación: 8a36e1f464293f23edafe9824e1bdfd8

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°4999/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26272 - N° Muestra: 4999/2017 - Suelo / T3 / Trychoderma / B II / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,015

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Handwritten signature and stamp:
Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. Mago. Sonia E. Tardío Pan Gonzales
Gerente de Laboratorio
D.B.P. 9097



Clave de Validación: e45da43a235847d5db4ea921b37d74e3

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5000/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2424/2017

Muestra Id: 26273 - N° Muestra: 5000/2017 - Suelo / T3/ Trychoderma / B III / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 31/07/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 31/07/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,012

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. Mago. Sonia E. Tandeipan Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 3d738a71877a4ef3b252af7ef194ea3a

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5047/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26320 - N° Muestra: 5047/2017 - Suelo / T0 / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,02

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Blgo. Mblgo. Soledad E. Tandiapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 3678cdef275b2c59f0ea37a279b7446c

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5048/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26321 - N° Muestra: 5048/2017 - Suelo / T1 / *Penicillium* / B I / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,016

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. M. B. S. Tania Marilín Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 3920baad333e2c28b1cb36e412d7536d

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5049/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26322 - N° Muestra: 5049/2017 - Suelo / T1 / *Penicillium* / B II / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,013

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. Mago. Soledad Tandiapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 5345ddae249b7c99b2ab13a233b2645a

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5050/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26323 - N° Muestra: 5050/2017 - Suelo / T1/ *Penicillium* / B III / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,007

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. Mbg. Socia E. Yandapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
D.B.P. 9097



Clave de Validación: 7004daaef822d6e56b5ad26e674d2788e

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5052/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26325 - N° Muestra: 5052/2017 - Suelo / T2 / Phanerochaete / B I / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,013

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Blgo. Mblgo. Sonia E. Tandiapan Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 5744fdaf826a6e34b7ad33e894a2793d

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5053/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26326 - N° Muestra: 5053/2017 - Suelo / T2 / Phanerochaete / B II / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,007

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Handwritten signature of Blgo. Mblgo. Sonia E. Tardápan Gonzales
Blgo. Mblgo. Sonia E. Tardápan Gonzales
Gerente de Laboratorio
D.B.P. 9097



Clave de Validación: 3421eaf311c4a21d2ae51a474a4754b

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST


Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.

CMA: CMA2482/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,003

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica


 Laboratorio de Ensayo y Control de Materiales
 Ing. M. B. Gonzales
 Gerente de Laboratorio
 C.B.P. 9097

 ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BAL.TIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier emienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5056/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26329 - N° Muestra: 5056/2017 - Suelo / T3 / Trychoderma / B I / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,015

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Handwritten signature:
Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. M. B. S. Tania Marilín Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 2791deef232d1e71d5ed90e869b6567

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5057/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26330 - N° Muestra: 5057/2017 - Suelo / T3 / Trychoderma / B II / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,011

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Laboratorio de Ensayo
Baltic Control
Ing. M. B. S. Tania Marilín Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 2323bach898c4e58b5cd34a476c8980b

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.

Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.



INFORME DE ENSAYO N°5058/2017.A

Razón Social: FERNANDEZ BRITO TANIA MARILIN

RUC: 10746058662

Dirección: Nro. S/N C.P. Costa Rica - Pajarillo - Mariscal Cáceres – Peru

CMA: CMA2482/2017

Muestra Id: 26331 - N° Muestra: 5058/2017 - Suelo / T3/ Trychoderma / B III / Una (01) unidad de 350g aprox.

Fecha de Emisión: ---

Fecha Recepción: 15/09/2017

Presentación: Envase de plástico sellada
Condición de la muestra: Temperatura ambiente
Procedencia de la muestra: Proporcionada por el Cliente
Fecha de inicio de análisis: 15/09/2017

Resultados Analíticos

Análisis		
Análisis	Unidad	Resultado
DDT	g/Kg	0,005

Métodos de Análisis e Informaciones Complementarias

Método de Análisis	Método de Referencia
DDT – Suelos	UNE-ISO 15009. Calidad del suelo – Determinación del contenido de hidrocarburos volátiles aromáticos, naftaleno e hidrocarburos halógenos volátiles mediante cromatografía de gas. Método mediante purga y atrapamiento con desorción térmica

Blgo. Mblgo. Soledad E. Tardáguila Gonzales
Gerente de Laboratorio
C.B.P. 9097



Clave de Validación: 6171ebad6932a7d33b8ae12c921a7132a

"EL USO INDEBIDO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE UN DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY, POR LA AUTORIDAD COMPETENTE"

ST

Prohibida la reproducción total o parcial de este informe, sin la autorización escrita de BALTIC CONTROL CMA S.A.
Cualquier enmienda o corrección en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.

Los resultados corresponden al objeto ensayado.
Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de productos o como certificado de sistemas de calidad de la entidad que lo produce.

